

Columnas BPG

Modo de empleo



Información importante para el usuario

Todos los usuarios deben leer todo el manual junto con la "Guía de mantenimiento de las columnas BPG", para comprender completamente el uso seguro de las columnas BPG.

Amersham Biosciences AB, previamente denominada Amersham Pharmacia Biotech AB, cambió su nombre por el nombre actual el 17 de octubre de 2001.

Certificado CE

Este producto cumple los requisitos de las directivas CE aplicables.

El símbolo **CE** y la declaración de conformidad correspondiente es válida para el instrumento cuando:

- se utiliza como unidad autónoma, o
- se conecta a otros instrumentos de Amersham Biosciences con distintivo CE, o
- se conecta a otros productos recomendados o descritos en este manual, y
- se utilizan en el mismo estado en que fueron entregados por Amersham Biosciences, con excepción de las alteraciones descritas en este manual

Términos y condiciones de venta

Todos los bienes y servicios se venden sujetos a los términos y condiciones de venta de la empresa, excepto si se ha indicado lo contrario por escrito, dentro del grupo Amersham Biosciences que los suministra. Puede solicitarse una copia de estos términos y condiciones.

Precauciones de seguridad

¡IMPORTANTE!

Siempre que se utilice la columna, tenga a su alcance este manual del Modo de empleo de la misma.

¡IMPORTANTE!

El usuario final debe asegurarse de que toda instalación, mantenimiento, funcionamiento e inspección son realizados por personal cualificado, debidamente formado y conocedor de las instrucciones de funcionamiento.



¡ADVERTENCIA! Utilice siempre una vestimenta protectora adecuada para garantizar la seguridad personal durante el funcionamiento.



¡ADVERTENCIA! Preste atención especial cuando se esté trabajando cerca de la columna.



¡ADVERTENCIA! NUNCA debe haber aire o gas a presión en la columna.



¡ADVERTENCIA! La presión de trabajo de la columna nunca debe superar la presión de diseño, de lo contrario existe riesgo de lesión personal y daño a la columna. Debe acoplarse un dispositivo de seguridad adecuado.



ADVERTENCIA! El rango de temperatura de trabajo de la columna nunca debe estar fuera del rango de temperatura de diseño.



¡ADVERTENCIA! Sobre las superficies en contacto con líquido sólo debe utilizar productos químicos que hayan demostrado no ser perjudiciales.



¡ADVERTENCIA! Los frenos de la rueda deben estar activados en todo momento durante el funcionamiento o el almacenamiento de la columna.



¡ADVERTENCIA! Durante el traslado de la columna, preste una atención especial a su equilibrio.

¡PRECAUCIÓN! Asegúrese de que el agua utilizada con la columna no tiene partículas, ya que éstas pueden bloquear y dañar las mallas.

Índice

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | Introducción | 1 |
| 1.1 | General | 1 |
| 1.2 | Etiquetado de la columna | 3 |
| 1.3 | Seguridad | 3 |
| 1.3.1 | General | 3 |
| 1.3.2 | Advertencias..... | 4 |
| 1.3.3 | Avisos de precaución..... | 4 |
| 1.3.4 | Notas | 4 |
| 1.3.5 | Resistencia química | 4 |
| 1.3.6 | Uso en atmósferas potencialmente explosivas..... | 4 |
| 1.4 | Operadores aprobados | 5 |
| 1.5 | Almacenamiento | 5 |
| 1.6 | Eliminación y reciclado | 5 |
| 1.6.1 | Materiales y sustancias..... | 5 |
| 1.6.2 | Columnas BPG..... | 6 |
| 1.7 | Objetivo de este manual | 6 |
| 2 | Desempaquetado de la columna | 7 |
| 3 | La columna BPG..... | 9 |
| 3.1 | Especificaciones y características | 9 |
| 3.2 | Materiales de la columna | 10 |
| 3.3 | Resistencia química | 10 |
| 3.4 | Curvas de presión/flujo | 12 |
| 3.4.1 | Curvas de presión/flujo para columnas vacías | 13 |
| 3.4.2 | Curvas de presión/flujo para columnas empaquetadas..... | 14 |
| 4 | Instalación y test de estanqueidad | 17 |
| 4.1 | Desmontaje y montaje | 17 |
| 4.1.1 | BPG 100, 140 y 200 | 17 |
| 4.1.2 | BPG 300..... | 22 |
| 4.1.3 | BPG 450..... | 27 |
| 4.2 | Conexiones | 30 |
| 4.3 | Toma de tierra de la columna | 30 |
| 4.4 | Test de estanqueidad | 31 |

| | | |
|----------|---|-----------|
| 5 | Funcionamiento | 33 |
| 5.1 | Empaquetado de la columna | 33 |
| 5.1.1 | <i>Cantidades de geles necesarias por cm de altura del lecho.....</i> | <i>34</i> |
| 5.1.2 | <i>Tamaños de malla recomendados</i> | <i>34</i> |
| 5.1.3 | <i>Determinación del flujo de empaquetado óptimo</i> | <i>35</i> |
| 5.1.4 | <i>Flujos de empaquetado recomendados para geles Amersham Biosciences</i> | <i>41</i> |
| 5.1.5 | <i>Método de empaquetado de la columna</i> | <i>41</i> |
| 5.2 | Evaluación de la columna | 46 |
| 5.2.1 | <i>Elección de la muestra de prueba para columnas</i> | <i>47</i> |
| 5.2.2 | <i>Cálculo de HETP.....</i> | <i>47</i> |
| 5.2.3 | <i>Cálculo del factor de asimetría del pico.....</i> | <i>49</i> |
| 6 | Abreviaturas | 51 |

1 Introducción

1.1 General

Las columnas BPG están especialmente diseñadas para cumplir los altos estándares de higiene que requieren ciertos procesos industriales. Con ellas se pueden realizar separaciones cromatográficas utilizando hasta 131 litros de gel. Además, permiten aplicar altas velocidades de flujo.

La utilización de las columnas BPG conjuntamente con Geles BioProcess, como Sepharose Fast Flow y Sephacryl High Resolution, es la mejor manera de alcanzar los más estrictos niveles de calidad. Los materiales de fabricación de las columnas BPG se han seleccionado especialmente para resistir los agentes de lavado y sanitización, como el hidróxido de sodio y el etanol.

Gracias a las especificaciones de presión y su resistencia a flujos bajos, estas columnas pueden utilizarse con geles BioProcess en cromatografías de intercambio iónico, de interacción hidrofóbica, de afinidad y de gel filtración. También puede emplearse Sephadex G-25 de tamaño de poro ancho, medio, fino y superfino. La calidad del sistema de distribución de flujo es equiparable a la de los geles Amersham Biosciences y permite que desplieguen su alta resolución.

Las columnas BPG se suministran completas con un adaptador. Hay disponibles dispositivos de empaquetado para pedidos en los que se soliciten alturas de lecho suplementarias.

Este manual también incluye protocolos de montaje de la columna y de empaquetado con geles BioProcess. Los protocolos de mantenimiento específicos de cada proceso en particular están reflejados en una sección especial de la Guía de mantenimiento de las columnas BPG (Capítulo 1).

Al final del manual encontrará unos desplegables en los que se explican los tres procesos básicos de montaje de la columna (adaptador, componentes de la columna y soporte).

Los componentes básicos de la columna son:

- Tubo de vidrio
- Brida
- Juntas de sellado
- Mallas del filtro
- Mallas de soporte
- Base
- Varillas

Las varillas sujetan la brida y la base con el tubo de vidrio sellado con juntas de sellado. Las juntas de sellado aíslan por completo el tubo de vidrio e impiden que entre en contacto con los componentes de acero inoxidable. El conjunto de piezas de la brida del adaptador y la tuerca de ajuste están sujetas o aferradas al reborde de la columna. La tuerca de ajuste puede rotar sobre un segmento de cierre en la brida, modificando la altura de la placa del adaptador en el tubo de la columna. La junta de cierre sella el adaptador y la columna de vidrio al ser comprimido por la unidad de cierre. Esta operación se realiza mediante el botón de ajuste de sellado. El soporte está sujeto a la base de la columna e incorpora ruedas con frenos accionables con los pies.

Nota: *Las columnas BPG 100 tienen pies ajustables. Pueden solicitarse ruedas de forma adicional.*

Las columnas BPG no deben emplearse para otros usos, por ejemplo:

- Tanque de almacenamiento para productos químicos, etc.
- Vasija a presión general.
- Vasija de fermentación
- Contenedor de gases.

1.2 Etiquetado de la columna

El distintivo CE en la etiqueta de identificación muestra que la columna cumple los requisitos de la directiva europea para equipamiento de presión (PED) 97/23/EC y/o la directiva para equipamiento en atmósferas potencialmente explosivas (ATEX100) 94/9/EC. Las columnas en las que el producto de volumen y presión permitida es demasiado pequeño no deben tener el distintivo CE según la PED. El equipo suministrado fuera de la Unión Europea puede no estar marcada con el distintivo CE.





| | | | |
|---|------------|--|-----------------|
|  BPGTm 100/500 | | | |
| Code no | 18-1103-01 | Max column volume V | 4 l |
| Year of manufacturing | 200 | Design pressure PS | 8 bar g |
| Tare mass | 15 kg | Test pressure PT | 11,5 bar g date |
| Operating temp. TS | 4-40 °C | Maximum filling mass | 6 kg |
| | | PED fluid group / cat. | 1/NA |
|   | | Amersham Biosciences AB Björkgatan 30 S-751 84 Uppsala Sweden | |
| | |  | |

Fig 1-1. Placa de graduación de la columna BPG

1.3 Seguridad

1.3.1 General

La información presentada en este manual sugiere las mejores condiciones de trabajo aunque nunca tendrán más relevancia que las normas locales o la responsabilidad individual. Se han dedicado grandes esfuerzos para diseñar y fabricar los distintos componentes del equipo, de modo que cumpla con todos los aspectos de seguridad aplicables. Cuando se trabaja con una vasija a presión, siempre es responsabilidad individual considerar:

- La seguridad propia y la de los demás.
- La seguridad del equipo mediante un uso correcto de acuerdo con las descripciones e instrucciones dadas en este manual.



1.3.2 Advertencias

¡ADVERTENCIA! El símbolo Advertencia subraya instrucciones que deben seguirse estrictamente para evitar cualquier daño personal. No proceda hasta que no haya entendido claramente las instrucciones y se hayan cumplido todas las condiciones establecidas.

1.3.3 Avisos de precaución

¡PRECAUCIÓN! El signo Precaución remarca instrucciones o condiciones que deben seguirse para evitar cualquier daño al producto o a otro equipo. No proceda hasta que no haya entendido claramente las instrucciones y se hayan cumplido todas las condiciones establecidas.

1.3.4 Notas

Nota: El signo Nota se utiliza para indicar información importante para utilizar el producto de forma óptima y sin problemas.

1.3.5 Resistencia química

Las especificaciones referentes a la resistencia química están incluidas en el Capítulo 3 de este Modo de empleo.

1.3.6 Uso en atmósferas potencialmente explosivas

Las columnas BPG no contienen circuitos eléctricos. No obstante, siempre deben observarse las siguientes precauciones:

- Evite las descargas de electricidad estática mediante una toma a tierra de la columna. Conecte un cable de tierra a la red de tierra de la planta. Hay disponible como accesorio un kit de conexión a tierra.
- Durante el funcionamiento y el mantenimiento de la columna sólo deben utilizarse herramientas especialmente diseñadas para su utilización en atmósfera explosivas.
- No olvide utilizar prendas de vestir adecuadas a atmósferas potencialmente explosivas.

Distintivo EX

El código EX en la etiqueta de identificación define el nivel de protección a la explosión del equipo. La categoría EX del equipo debe estar en concordancia con el nivel de protección de la sala.

EX II 3 G

Los equipos incluidos en esta categoría están concebidos para funcionar de acuerdo con los parámetros operacionales establecidos por el fabricante y asegurar un nivel de protección normal. Los equipos incluidos en esta categoría deben utilizarse en áreas en las que las atmósferas explosivas producto de gases o

vapores son poco frecuentes o, en el caso de existir, ocurren en muy pocos casos y durante un período de tiempo muy breve.

1.4 Operadores aprobados

La columna BPG es un equipo que podría compararse con un vasija de presión de volumen variable. Los operadores que utilicen la columna deben haber trabajado previamente con vasijas a presión y con equipos que proporcionen geles presurizados para control del empaquetado por compresión axial. El operador debe leer con detenimiento el Modo de empleo y, en especial, las instrucciones de seguridad, de forma que cuando empiece a trabajar con la columna ya esté familiarizado con ellos. El uso inadecuado de la columna puede causar daños en las instalaciones y lesiones físicas en el operador.

1.5 Almacenamiento

La columna debe almacenarse a la temperatura especificada y no debe exponerse a fluctuaciones extremas de temperatura. Se recomienda etanol al 20% como tampón de almacenamiento.

1.6 Eliminación y reciclado

Cuando la columna haya alcanzado el fin de su ciclo vital, debe eliminarse con arreglo a las leyes vigentes y las normativas relativas a los aspectos medioambientales del reciclado y eliminación de equipos industriales. Esta responsabilidad recae sobre el usuario final o equivalente. Contacte con las autoridades locales para cualquier consulta relativa a los aspectos medioambientales o las leyes vigentes para reciclar o eliminar equipos industriales de este tipo.

1.6.1 Materiales y sustancias

Para proceder a su destrucción, los materiales usados se dividen en las siguientes categorías:

- Inflamables
- Madera
- Materiales compuestos (por ejemplo, recubiertos con plástico o con una capa de metal)
- Papel
- No inflamables
- Metal

Nota: *Los metales peligrosos o que contiene materias peligrosas (como plomo, cadmio, mercurio, etc.) deben separarse y eliminarse de forma controlada.*

- Los plásticos se separan en duros (endurecidos) y blandos (térnicos).
- Material para compostaje (todos los materiales que se podrán transformar en abono en un futuro próximo).
- Material de depósito (ciertos materiales que no pueden reciclarse y deben depositarse). Para su depósito, contacte con las autoridades locales.

1.6.2 Columnas BPG

Antes de desechar el equipo de la columna, es necesario:

- Vaciar, limpiar y esterilizar la columna.
- Para metales no inflamables como el acero inoxidable, contacte con una empresa local de eliminación de residuos de confianza.

1.7 *Objetivo de este manual*

Este manual se ha diseñado como introducción general y guía para utilizar la columna. Específicamente, el manual incluirá:

- Introducción (Capítulo 1)
- Desempaquetado de la columna (Capítulo 2)
- La columna BPG (Capítulo 3)
- Instalación y test de estanqueidad (Capítulo 4)
- Funcionamiento (Capítulo 5)
- Abreviaturas (Capítulo 6)

El manual adjunto “Guía de mantenimiento de las columnas BPG” incluye los siguientes temas:

- Mantenimiento y servicio (Capítulo 1)
 - Resolución de problemas (Capítulo 2)
 - Información para pedidos (Capítulo 3)
-

2 Desempaquetado de la columna

Desempaque el equipo cuidadosamente y compruebe que no se hayan producido daños durante el transporte.

La Tabla 2-1 (abajo) especifica los n.º de referencia de los tubos y los soportes de la columnas correspondientes a cada diámetro de columna – compruebe que los n.º de referencia de todas las piezas son los adecuados para su columna.

Tabla 2-1. N.º de referencia de los soportes y los tubos.

| Diámetro de la columna (mm) | Longitud del tubo de la columna (mm) | | | Soporte |
|-----------------------------|--------------------------------------|------------|-------------|------------|
| | 500 | 750 | 950 | |
| 100 | 18-1103-01 | 18-1103-02 | 18-1103-03 | 18-1031-10 |
| 140 | 18-1113-08 | 44-7320-47 | 18-1113-09 | 18-1031-20 |
| 200 | 18-1103-11 | 18-1103-12 | 18-1103-13 | 18-1031-20 |
| 300 | 18-1103-21 | 18-1103-22 | 18-1103-23 | - |
| 450 | 18-1103-71 | 18-1103-72 | 18-1103-73* | - |

* La altura del tubo de la columna BPG 450 es de 1000 mm.

Nota: Para obtener el set completo de las columnas BPG 100, 140 y 200 es preciso solicitar el soporte y la columna.

Compruebe que estén presentes todos los elementos de la Tabla 2-2.

Tabla 2-2. Cantidad de cada de componente suministrada con las columnas BPG.

| Producto | Cantidad | | | | |
|--|----------|---------|---------|---------|---------|
| | BPG 100 | BPG 140 | BPG 200 | BPG 300 | BPG 450 |
| Brida ciega con junta, EPDM | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| Abrazadera 23 mm, 51 mm | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| Soporte | - | - | - | 1 | 1 |
| 23 mallas de µm | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| Tornillos de fijación para sujetar el soporte a la columna | - | - | - | 6 | 4 |
| Manual de usuario/mantenimiento (uno de cada) | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |



3 La columna BPG

Este capítulo proporciona conocimientos generales sobre las especificaciones y características de las columnas BPG.

3.1 Especificaciones y características

Tabla 3-1. Especificaciones y características principales de las columnas BPG

| Diámetro de la columna (mm) | Área transversal (cm ²) | Altura del tubo (cm) | Altura del lecho ^{1, 3} (cm) mín máx | Volumen del lecho ^{1, 3} (litros) mín máx | Presión máxima ¹ (bar) | Peso total (kg) | Peso del adaptador (kg) | Dimensiones globales (cm) Prof x Anch x Alt |
|-----------------------------|-------------------------------------|----------------------|---|--|-----------------------------------|-----------------|-------------------------|---|
| 100 | 79 | 50 | 0 26 (48) | 0,0 2,0 (3,8) | 8 | 15 | 7 | 48 x 48 x 127 |
| 100 | 79 | 75 | 25 41 (66) | 2,0 3,2 (5,2) | 8 | 16 | 7 | 48 x 48 x 152 |
| 100 | 79 | 95 | 45 54 (83) ⁴ | 3,5 4,2 (6,6) | 8 | 17 | 7 | 48 x 48 x 172 |
| 140 | 154 | 50 | 0 26 (48) | 0,0 4,0 (7,4) | 6 | 25 | 11 | 59 x 59 x 127 |
| 140 | 154 | 75 | 25 41 (66) | 3,9 6,3 (10,2) | 6 | 26 | 11 | 59 x 59 x 152 |
| 140 | 154 | 95 | 45 54 (83) | 6,9 8,3 (12,8) | 6 | 27 | 11 | 59 x 59 x 172 |
| 200 | 314 | 50 | 0 26 (48) | 0,0 8,2 (15,1) | 6 | 34 | 13 | 59 x 59 x 127 |
| 200 | 314 | 75 | 25 41 (66) | 7,3 12,9 (20,7) | 6 | 36 | 13 | 59 x 59 x 152 |
| 200 | 314 | 95 | 45 54 (83) ⁴ | 14,1 16,9 (26,1) | 6 | 39 | 13 | 59 x 59 x 172 |
| 296 | 688 | 50 | 0 26 (48) | 0,0 17,9 (33,0) | 4 | 68 | 29 | 69 x 69 x 133 |
| 296 | 688 | 75 | 25 41 (66) | 17,2 28,7 (45,4) | 4 | 73 | 29 | 69 x 69 x 158 |
| 296 | 688 | 95 | 45 54 (83) ⁴ | 31,0 37,2 (57,1) | 4 | 78 | 29 | 69 x 69 x 178 |
| 446 | 1562 | 50 | 3 23 (42) | 4,7 35,9 (65,6) | 2,5 | 200 | 100 | 80 x 80 x 140 |
| 446 | 1562 | 75 | 22 39 (58) | 34,4 60,9 (90,6) | 2,5 | 215 | 100 | 80 x 80 x 165 |
| 446 | 1562 | 100 | 47 58 (83) ⁴ | 73,4 90,6 (131,2) ⁵ | 2,5 | 230 | 100 | 80 x 80 x 190 |

¹ Los volúmenes y alturas máximos de los lechos se basan en una concentración de la suspensión del 75% y una compresión de empaquetado del 15%. La compresión es la diferencia de volumen entre un lecho sedimentado y un lecho bajo presión.

² Use un manómetro para controlar la presión (para pedirlo, consulte el capítulo 3, Guía de mantenimiento de BPG).

³ Las cifras entre paréntesis se consiguen utilizando una ampliación del empaquetado.

⁴ Los volúmenes y alturas máximos de los lechos se basan en una concentración de la suspensión del 80% y una compresión de empaquetado del 15%.

⁵ Los volúmenes y alturas máximos de los lechos se basan en una concentración de la suspensión del 85% y una compresión de empaquetado del 15%.

La temperatura de funcionamiento para las columnas BPG es de 4 a 40 °C.

Tabla 3-2. Dimensiones de entrada y salida de columnas BPG

| | Tamaño de la columna | | | | |
|---------------------|----------------------|-----|-----|-----|-----|
| | 100 | 140 | 200 | 300 | 450 |
| Dimensiones I/E, mm | 4 | 6 | 6 | 10 | 12 |

3.2 *Materiales de la columna*

Los materiales utilizados en la fabricación de las columnas BPG se han seleccionado cuidadosamente teniendo en cuenta su compatibilidad con los disolventes utilizados más habitualmente en la separación cromatográfica de biomoléculas y en los procesos de mantenimiento y limpieza de las columnas. Los materiales poliméricos se han sometido a un test de reactividad biológica de acuerdo con la USP XXIII. El test *in vitro* se ha realizado conforme al "Test de elución", y el test *in vivo* conforme al "Test de inyección sistémica" y al "Test intracutáneo". En las pruebas *in vivo* se han utilizado extractos de NaCl 0,9% y aceite de sésamo como muestras. Todos los materiales cumplieron los requisitos detallados en la USP XXIII, Clase VI.

Puede considerarse que los componentes de la columna contienen partes húmedas, aquéllas que están en contacto con los líquidos del proceso, y partes secas. Todos los materiales de fabricación son materiales de alta calidad que cumplen los requisitos del entorno de fabricación industrial. En las tablas A-1, A-2 y A-3 del Apéndice se presentan los componentes de las columnas e identifican los materiales en que se fabrican las partes húmedas y secas de cada componente.

3.3 *Resistencia química*

La tabla 3-3 pretende servir como guía sobre la resistencia a los disolventes de los materiales utilizados en las columnas BPG. Esta información se ha recopilado de material publicado en diversas fuentes, y no a partir de tests individuales de los diferentes componentes de la columna. En consecuencia, el operador debe considerar esta lista tan sólo como una guía sobre la resistencia a productos químicos mostrada por cada material. Debe observarse que los efectos de un producto químico serán más graves a temperaturas y presiones más altas, y que no se han tenido en cuenta los efectos combinados.

Por lo general, deberá evitarse el uso de los siguientes productos químicos en las columnas BPG:

- Sustancias muy oxidantes (como los peróxidos)
- Compuestos halogenados
- Disolventes clorados (como el cloruro de metileno)
- Ésteres (como los acetatos)

- Hidrocarburos aromáticos (como el tolueno)
- Ácidos fuertes en altas concentraciones
- Cloroformo
- THF
- Tolueno
- Metilendicloruro

Nota: Evite la sal combinada con un pH inferior a 4. Lave siempre la columna con al menos dos volúmenes de la columna de una solución de pH neutro entre uso de tampones de sal y de pH bajo.

Tabla 3-3. Tabla de resistencia química de materiales en las columnas BPG

| Sustancia | Concentración por volumen | 60–90 días ¹ |
|---------------------------|---------------------------|-------------------------|
| Acetato de etilo | 100% | véase la nota 4 |
| Acetona | 10% | OK |
| Acetonitrilo | 5% | véase la nota 2 |
| Acetonitrilo | 50% | véanse las notas 3, 4 |
| Ácido acético | 10% | véase la nota 7 |
| Ácido acético | 25% | véase la nota 7 |
| Ácido clorhídrico | 0,1M | véanse las notas 6, 7 |
| Ácido nítrico | 0,1M | véase la nota 7 |
| Ácido trifluoroacético | 0,1% | véanse las notas 7, 8 |
| Alcohol isopropílico | 100% | véase la nota 2 |
| Ciclohexano | 100% | véanse las notas 3, 4 |
| Cloruro sódico | 2M | véase la nota 5 |
| Etanol | 100% | véase la nota 2 |
| Etilenglicol | 50% | OK |
| Exano | 100% | véanse las notas 2, 7 |
| Glicerol | 100% | OK |
| Hidróxido sódico | 2M | OK |
| Metanol | 100% | OK |
| n-Propanol | 100% | OK |
| Triton® X-100 | 100% | OK |
| Tween/Tri-n-butil fosfato | 1% / 0,3% | OK |
| UREA | 8M | OK |

¹ El test no incluye tubos de PVC.

² La goma EPDM cambia las características. Para un uso repetitivo y a largo plazo, utilice juntas de sellado y juntas de FEP/PFR/PTFE.

³ Cambie a juntas de sellado y juntas de FEP/PFR/PTFE.

- ⁴ La resistencia al plástico de polipropileno es aceptable.
- ⁵ Puede utilizarse en condiciones de carrera normal. No utilice NaCl en soluciones de almacenamiento. Recuerde que el NaCl puede corroer el acero inoxidable en soluciones ácidas (pH inferior a 4,0).
- ⁶ No superior a 4 horas.
- ⁷ No se recomienda utilizarlo con mallas de PA.
- ⁸ FEP cambia las características. Por tanto, utilice goma EPDM.

3.4 Curvas de presión/flujo

Por lo general, es muy difícil desarrollar curvas teóricas de presión/flujo.

Las curvas más exactas de presión/flujo se obtienen por métodos experimentales.

La Figura 3-1 muestra una configuración típica utilizada en los laboratorios Amersham Biosciences para generar curvas de presión/flujo.

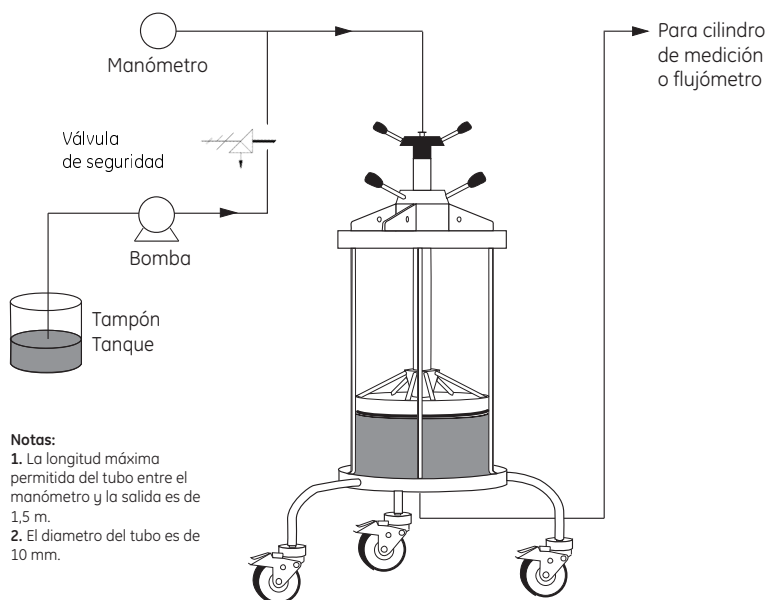


Fig 3-1. Configuración típica para determinar las curvas de presión/flujo. NOTA: La columna sólo contiene tampón. El flujo de salida debe estar al mismo nivel que el manómetro.

3.4.1 Curvas de presión/flujo para columnas vacías

Las figuras 3-2 y 3-3 muestran las curvas de presión/flujo para columnas BPG vacías, obtenidas utilizando el método presentado en la sección 5.1.3 de este manual y la configuración mostrada anteriormente.

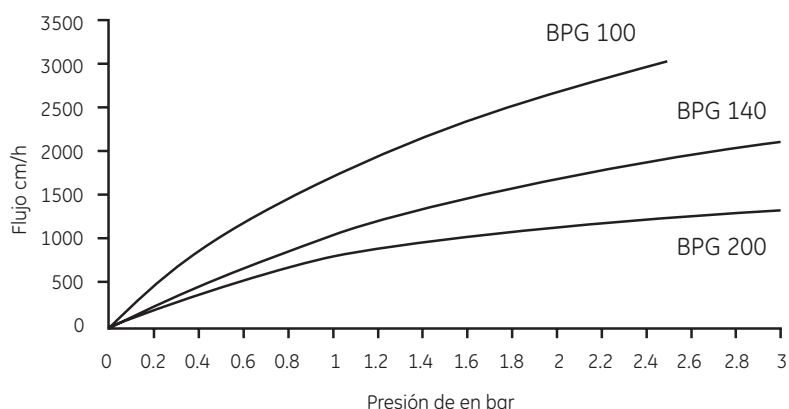


Fig 3-2. Ejemplos de curvas de presión/flujo para columnas BPG 100, 140 y 200 vacías.

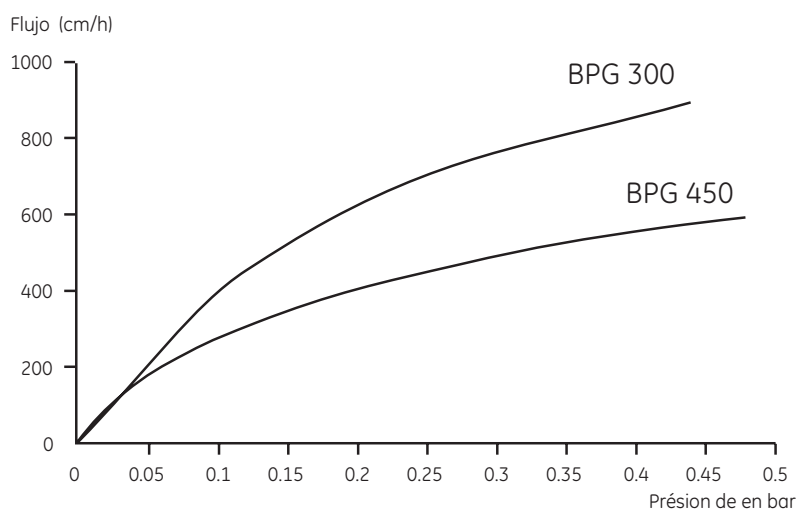


Fig 3-3. Curvas de presión/flujo para columnas BPG 300, y 450 vacías.

3.4.2 Curvas de presión/flujo para columnas empaquetadas

Las figuras 3-4 a 3-6 muestran las curvas de presión/flujo para columnas BPG empaquetadas, obtenidas utilizando el método presentado en la sección 5.1.5 y la configuración mostrada en la Fig. 3-1.

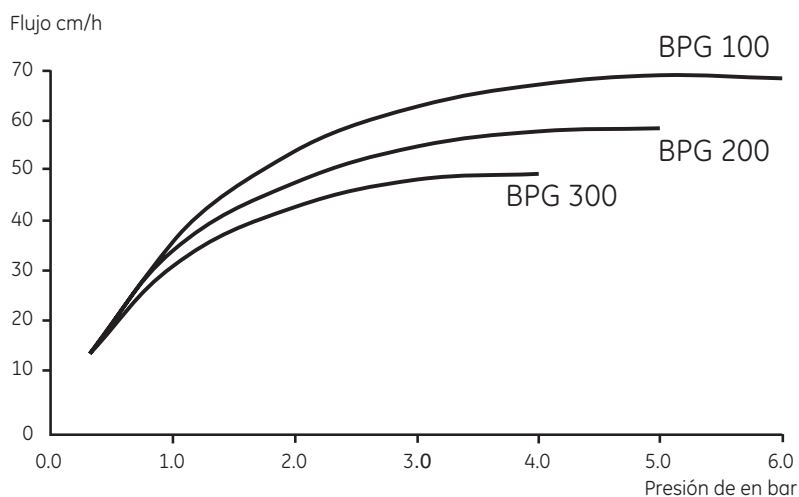


Fig 3-4. Curva de presión/flujo para Superdex 200 grado prep en columnas BPG. Altura del lecho 60 cm.

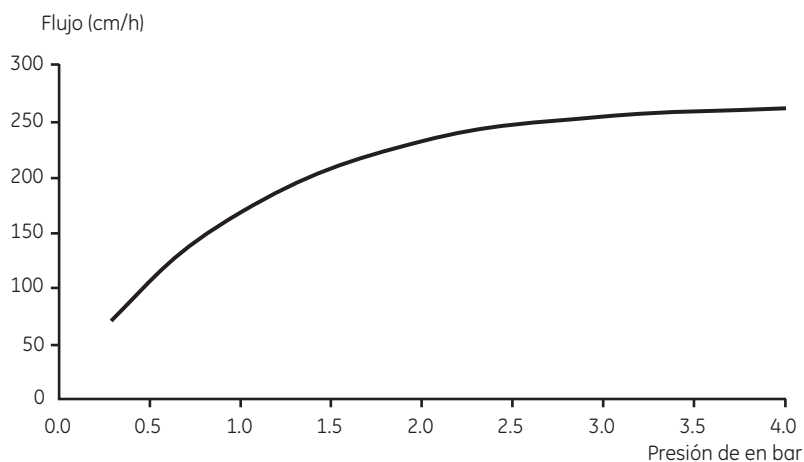


Fig 3-5. Curva de presión/flujo para Q Sepharose High Performance en BPG 300/500. Altura del lecho 10 cm.

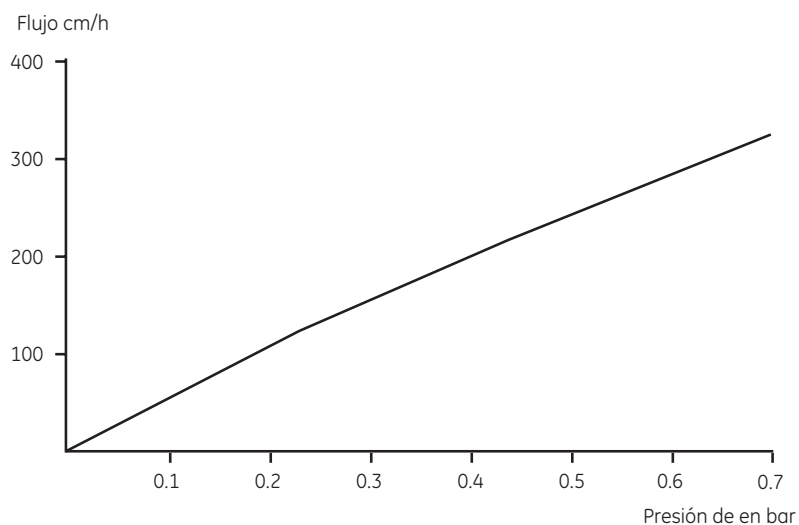


Fig 3-6. Curva de presión/flujo para una columna BPG 450 empaquetada con Q Sepharose Fast Flow a una altura del lecho de 15 cm.



4 Instalación y test de estanqueidad

Todas las columnas BPG poseen abrazaderas sanitizables como conectores.

¡Precaución! Utilice únicamente tubos y abrazaderas aprobados que resistan la presión máxima de la columna y los productos químicos que van a usarse durante su funcionamiento.

¡Precaución! Coloque la columna en un sitio apartado de los lugares de paso para evitar que nadie choque con ella o la mueva inintencionadamente. Procure no pisar los tubos que están por el suelo.

4.1 Desmontaje y montaje

Siga las instrucciones de las secciones siguientes para desmontar y montar las columnas y los adaptadores. Consulte las tablas A-1 a A-3 y las Figuras A-1 a A-5 para identificar cada pieza (estas tablas y figuras se encuentran al final del manual). Los números entre paréntesis () que encontrará a lo largo de cada sección corresponden con las figuras y las tablas del final del manual.



¡ADVERTENCIA! Cerciórese de que la columna es hermética y no gotea tras haberla montado.

4.1.1 BPG 100, 140 y 200

Desmontando la columna

Para desmontar las columnas BPG 100, 140 y 200, consulte la Tabla A-1 y las Figuras A-1 y A-2 del final del manual y proceda de la siguiente manera:

- 1 Retire las tuercas ciegas (18) y las arandelas de muelle (14) que ajustan el adaptador a la brida (10).



¡ADVERTENCIA! Si el sello de la junta de cierre del adaptador está seco, un movimiento forzado del adaptador lo dañará. Humedezca la junta de cierre con agua o con una solución de etanol al 20%. NO engrase la junta de cierre.

- 2 Desatornille la tuerca de ajuste (17) varias vueltas para aflojar el sello de la junta de cierre del adaptador (28/29) y retire el adaptador.
- 3 Con ayuda de una llave, y en la secuencia que muestra la Fig. 4-1, retire las tuercas (8) y las arandelas (9) de muelle que fijan las varillas de soporte (2) a la brida (10).



¡ADVERTENCIA! No afloje del todo las tuercas de una sola vez. Afloje las tuercas paso a paso, tal y como muestra la Figura 4-1. Son suficientes tres o cuatro vueltas para aflojar y retirar las tuercas correctamente. Para prevenir que las varillas se desatornillen, utilice una llave de media luna en la parte plana.

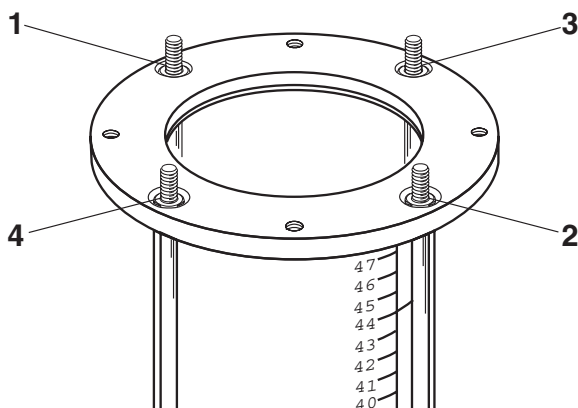


Fig 4-1. Secuencia de retirada y apretado de las tuercas.



¡ADVERTENCIA! Al retirar la brida, el tubo de columna queda suelto. Tenga cuidado para evitar que se vuelque el tubo de la columna.

- 4 Retire la brida (10) con cuidado.
- 5 Con una llave ajustable, retire las varillas de soporte (2) de la base (12).
- 6 Levante el tubo de vidrio (1) y retírelo. Con cuidado, coloque el tubo de vidrio sobre una superficie firme. Si la junta de cierre se adhiere al tubo de vidrio o a la base, humedézcalo con etanol al 20% y luego retírelo.
- 7 Con la ayuda de una llave, retire los tornillos de fijación (13) y las arandelas de muelle (14) que sujetan la base (12) al soporte (15). Separe la base y el soporte.

Desmontando la columna

Para montar las columnas BPG 100, 140 y 200, consulte la Tabla A-1 y la Figura A-2 que se encuentran al final del manual. Proceda de la siguiente manera:

Nota: Humedezca la malla con etanol al 20% para eliminar el aire atrapado.

- 1 Con respecto a la Figura 4-2, compruebe que las siguientes piezas estén colocadas correctamente en la base (12):
 - Malla de soporte (5)
 - Malla del filtro (4)
 - Segmento de ajuste PTFE (3)
 - Junta de cierre (6/7)

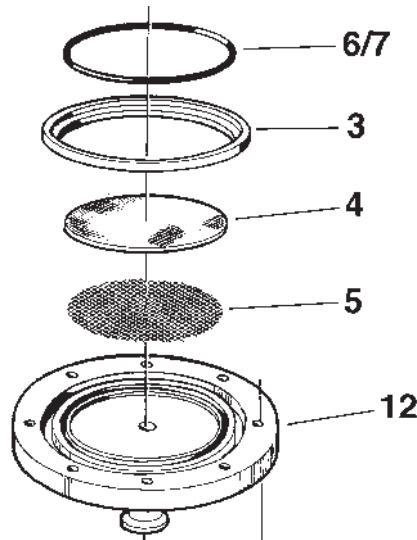


Fig 4-2. Representación de la base en las columnas BPG 100, 140 y 200.

- 2 Fije la base (12) al soporte (15) con los tornillos de fijación (13) y las arandelas de muelle (14).
- 3 Con cuidado, coloque el tubo de vidrio (1) sobre la junta de cierre (6/7) de la base (12). Compruebe que el tubo de vidrio no esté en contacto con acero inoxidable. Alinee el tubo con la malla del filtro (4).
- 4 Atornille las varillas de soporte (2) a la base (12).
- 5 Coloque la brida (10) de forma que las varillas de soporte (2) encajen en los orificios correspondientes. Asegúrese de que las juntas de sellado (6/7) de la brida estén alineadas con el tubo de vidrio. El tubo de vidrio no debe tocar acero inoxidable. de lo contrario, el tubo de vidrio puede romperse.
- 6 Alinee la superficie interna del tubo de vidrio con la superficie interna de la brida.
- 7 Monte las arandelas de muelle (9) y las tuercas (8) en las varillas de soporte (2) y apriételas a mano.
- 8 Según las especificaciones de la Tabla 4-1, utilice una llave dinamométrica para apretar las tuercas (8) y las arandelas de muelle (9) para ajustar las varillas de soporte (2) a la brida (10). Siga la secuencia de pasos de la Figura 4-1 (es decir, apriete las tuercas en el orden 1-2-3-4 de la figura, dibujando una cruz).



¡ADVERTENCIA! Si aprieta demasiado fuerte estas cuatro tuercas en las varillas de soporte (las que ajustan la brida y la base al tubo de la columna), el tubo de vidrio se romperá. Utilice siempre una llave dinamométrica para apretar estas tuercas.

Tabla 4-1. Especificaciones de las llaves dinamométricas para las columnas BPG 100, 140 y 200.

| | Columna BPG | | |
|--------------|-------------|-----|-----|
| | 100 | 140 | 200 |
| Momento (Nm) | 4 | 5 | 5 |

9 La columna está lista para ser utilizada y ya puede insertarse el adaptador.

Desmontaje del adaptador

Para desmontar el adaptador en las columnas BPG 100, 140 y 200, consulte la Tabla A-1 y la Figura A-1, y proceda de la siguiente manera:

- 1 Retire la malla del filtro (36) doblándola con cuidado. Retire la malla de soporte (35). Procure no rascar el adaptador para evitar pérdidas.
- 2 Retire la pieza de bloqueo de giro (25) de la brida superior (21) quitando los tornillos de fijación (24).
- 3 Libere la unidad de cierre (27) y la camisa del adaptador (30) desatornillando los tornillos de fijación (26) de la arandela superior de la unidad de cierre.
- 4 Con cuidado, retire la tuerca de ajuste (17). De esta forma, disminuirá la tensión del resorte (33) situado bajo la camisa del adaptador (30).
- 5 Retire el conjunto de piezas de la parte superior (19-23) y sepárelo del émbolo externo (31) haciéndolo girar en el sentido de las agujas del reloj.
- 6 Retire la unidad de cierre (27) y la junta de cierre del adaptador (28/29).
- 7 Retire el émbolo externo del adaptador (31), la camisa del adaptador (30) y el resorte (33) quitando los tornillos (32).
- 8 Puede desmontar el conjunto de piezas de la parte superior (19-23) quitando los tornillos (23).

De esta forma se completa el procedimiento de desmontaje del adaptador.

Montaje del adaptador

Para montar el adaptador en las columnas BPG 100, 140 y 200, consulte la Figura A-1 (y la Tabla 4-1 para las especificaciones de las llaves dinamométricas) y proceda de la siguiente manera:

- 1 Coloque el segmento de cierre (20) en el hueco de la brida (21).
- 2 Ajuste la parte insertable del rodamiento de ajuste (22) al cuerpo del volante de ajuste (19) mediante los tornillos (23) a través de la brida (21) de forma que el cuerpo del volante de ajuste gire en el segmento de cierre (20).
- 3 Coloque el resorte (33), la camisa del adaptador (30) y el émbolo externo del adaptador (31) en la placa del adaptador (34) deslizándolos sobre ella.
- 4 Apriete el émbolo externo del adaptador (31) en la placa del adaptador (34) mediante los tornillos (32).

- 5 Coloque la unidad de cierre (27) en el tubo del adaptador (31) deslizándolo sobre él.
- 6 En el sentido de las agujas del reloj, atornille 5 cm el conjunto de piezas de la brida (19-23) en el émbolo externo del adaptador (31).
- 7 En el sentido de las agujas del reloj, gire el tornillo de ajuste (17) sobre la parte superior del adaptador hasta que los orificios de la camisa del adaptador (30) estén alineados con los orificios del émbolo externo del adaptador (31).
- 8 Con los dedos, apriete los tornillos (26) en la mitad superior de la unidad de cierre (27), asegurándose de que queden correctamente alineados en los orificios, hasta que parezca una porción de la rosca del tornillo de 1 a 2 mm. Por último, apriete los tornillos con una llave de anillo.
- 9 Monte la pieza de bloqueo de giro (25) en la brida (21) con los tornillos (24).
- 10 Monte la junta de cierre del adaptador (28/29) en la placa del adaptador (34).
- 11 Humedezca la malla del filtro (36) con etanol al 20%. Monte la malla de soporte (35) y la malla del filtro (36) en la placa del adaptador (34). Si moja la malla del filtro con agua, será más fácil colocarlo en el adaptador.

De esta forma se completa el procedimiento de montaje del adaptador.

Montar un tubo de extensión (dispositivo de empaquetado)

El tubo de extensión se monta a la entrega. El montaje/desmontaje del tubo de extensión es igual al de la columna, con excepción de las pautas a seguir para el soporte.

Para montar un tubo de extensión en BPG 100, 140 y 200 proceda de la siguiente forma:

- 1 Retire el adaptador de la columna y coloque el tubo de extensión en la brida superior (10) de forma que las varillas de la columna se adapten a los orificios abiertos de la brida (Figura 4-3) en el tubo de extensión. Asegúrese de que la delgada junta de cierre está colocada correctamente en la brida.

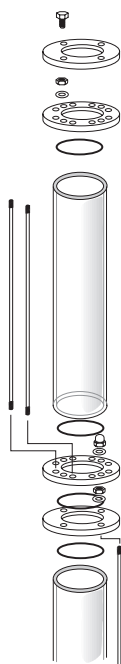


Fig 4-3. Situación de los componentes del dispositivo de empaquetado.

- 2 Utilice las arandelas de muelle y las tuercas ciegas de la tapa de la columna (adaptador) para asegurar el tubo de extensión en la columna.

La columna extendida está lista para usar en el primer paso de empaquetado de los procesos de empaquetado en dos etapas. Los tornillos de fijación y las arandelas de muelle suministradas con el tubo de extensión se utilizan para montar el adaptador en la extensión.

Nota: No empaquete la columna a alturas de lecho superiores a la longitud de la columna, es decir, el adaptador debe sellar la pared de la columna, NO la pared del tubo de extensión. Se necesita un tubo de 10 cm de longitud para instalar el adaptador en el tubo de la columna si se retira la extensión de empaquetado.

4.1.2 BPG 300

Desmontando la columna

Para desmontar la columna BPG 300, consulte la Tabla A-2 y las Figuras A-3 y A-4 del final del manual y proceda de la siguiente manera:

- 1 Afloje las tuercas (4) de la brida de centrado (1) que asegura el montaje del adaptador con la brida (5) y retire la brida de centrado.



¡ADVERTENCIA! Si el sello de la junta de cierre del adaptador está seco, un movimiento forzado del adaptador lo dañará. Humedezca la junta de cierre con agua o con una solución de etanol al 20%. NO engrase la junta de cierre.

- 2 Desatornille el volante de bloqueo (23) varias vueltas, suficientes sólo para aflojar el sello de la junta de cierre del adaptador (33/34). Retire el adaptador sin dejar el acero inoxidable toque el vidrio.
- 3 Con una llave, y en la secuencia que muestra la Fig. 4-4, retire las tuercas (2) y las arandelas de muelle (9) que fijan las varillas de soporte (8) a la brida (5).

¡Precaución! No afloje del todo las tuercas de una sola vez. Afloje las tuercas paso a paso, tal y como muestra la Figura 4-4. Son suficientes tres o cuatro vueltas para aflojar y retirar las tuercas correctamente. Para prevenir que se desatornillen las varillas, utilice una llave ajustable en la parte plana.

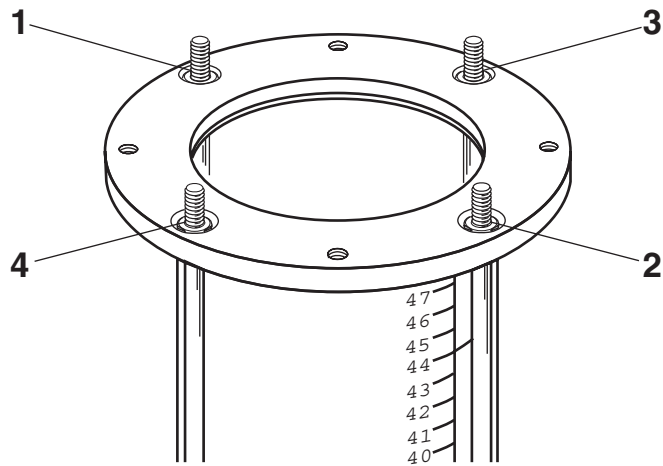


Fig 4-4. Secuencia de retirada y apretado de las tuercas.

¡Precaución! Al retirar la brida, el tubo de columna queda suelto. Tenga cuidado para evitar que se vuelque/pierda el equilibrio el tubo de la columna.

- 4 Retire la brida (5) con cuidado.
- 5 Con una llave ajustable, retire las varillas de soporte (8) de la base (14).
- 6 Levante el tubo de vidrio (9) y retírelo. Con cuidado, coloque el tubo de vidrio sobre una superficie firme. Si la junta de cierre se adhiere al tubo de vidrio o a la base, humedézcalo con una solución de etanol al 20% y luego retírelo.
- 7 Con una llave en anillo, retire los tornillos de fijación (21) y las arandelas de muelle (20) que sujetan la base (14) al soporte (19). Separe la base y el soporte.

Desmontando la columna

Para montar la columna BPG 300, consulte la Figura A-4 y proceda de la siguiente forma:

Nota: Humedezca la malla con etanol al 20% para eliminar el aire atrapado.

- 1 Con respecto a la Figura 4-5, compruebe que las siguientes piezas estén colocadas correctamente en la base (14):
 - Placa de distribución (13; el lado perfilado debe estar de cara a la base, y el lado plano debe estar de cara a la malla de soporte)
 - Malla de soporte (12)
 - Malla (10/11)
 - Junta de cierre (6/7)

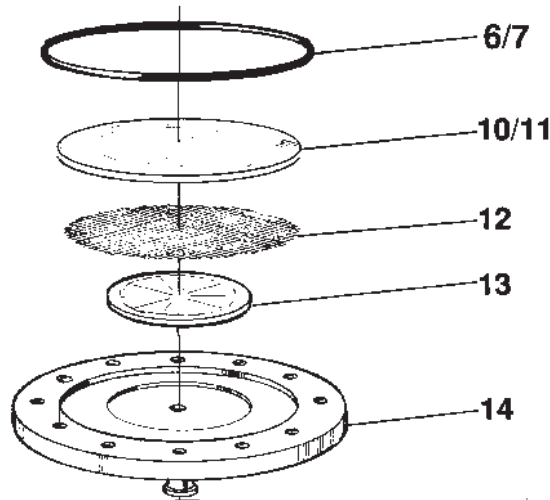


Fig 4-5. Situación de la base en las columnas BPG 300.

- 2 Fije la base (14) al soporte (19) con los tornillos de fijación (21) y las arandelas de muelle (20).
- 3 Con cuidado, coloque el tubo de vidrio (9) sobre la junta de cierre (6/7) de la base (14). Compruebe que el tubo de vidrio no esté en contacto con el acero inoxidable. Alinee el tubo de vidrio con la malla del filtro inferior (10/11).
- 4 Atornille las varillas de soporte (8) a la base (14).
- 5 Coloque la brida (5) de forma que las varillas de soporte (8) encajen en los orificios correspondientes. Asegúrese de que la junta de cierre (6/7) de la brida esté alineado con el tubo de vidrio. El tubo de vidrio no debe tocar el acero inoxidable, de lo contrario, el tubo de vidrio puede romperse.
- 6 Alinee la superficie interna del tubo de vidrio con la superficie interna de la brida.



¡ADVERTENCIA! Si aprieta demasiado fuerte estas cuatro tuercas en las varillas de soporte (las que ajustan la brida y la pieza de soporte a la columna de vidrio), el tubo de vidrio se romperá. Utilice siempre una llave dinamométrica para apretar estas tuercas. Para especificaciones dinamométricas, consulte la Tabla 4-2.

- 7 Sitúe las arandelas de muelle (3) y las tuercas (2) en las varillas de soporte (8) y apriételas a mano.
- 8 Configure la llave dinamométrica según la Tabla 4-2, y apriete las tuercas (2) según la secuencia mostrada en la Fig. 4-4. Apriete las tuercas paso a paso para evitar una presión mecánica irregular sobre el tubo de vidrio. Se recomiendan tres a cuatro vueltas por tuerca.

Tabla 4-2. Especificaciones de las llaves dinamométricas para las columnas BPG 300.

| Artículo (Consulte su posición en la Fig. A-4) | Especificación de la llave dinamométrica |
|--|--|
| Tuercas de la varilla (2) | 6 Nm |
| Tuercas de la brida de centrado (4) | 6,5 Nm |

La columna está lista para ser utilizada y ya puede insertarse el adaptador.

Desmontando el adaptador

Para desmontar el adaptador en las columnas BPG 300, consulte la Figura A-3 y proceda de la siguiente forma:

- 1 Localice la pequeña hendidura en la base del anillo de la malla del filtro. Retire la malla del filtro (41/42) girando una espátula o una hoja roma similar de acero inoxidable en la hendidura. Retire la malla de soporte (40).
- 2 Retire el tornillo guía (28) y la tuerca de cierre (27) de la brida (26).
- 3 Libere la unidad de cierre (30) y la camisa del adaptador (35) desatornillando los tornillos de fijación (31) de la arandela superior de la unidad de cierre.
- 4 Retire cuidadosamente el volante de cierre (23) liberando la tensión del resorte (38) situado bajo la camisa del adaptador (35).
- 5 Retire el conjunto de piezas de la parte superior (24 a 26, 29 y 32) y sepárelo del émbolo externo del adaptador (36) haciéndolo girar en el sentido de las agujas del reloj.
- 6 Retire la unidad de cierre (30) y la junta de cierre del adaptador (33/34).
- 7 Retire el émbolo externo del adaptador (36), la camisa interna del adaptador (35) y el resorte (38) quitando los tornillos (37) de la placa del adaptador (39).
- 8 Puede desmontar el conjunto de piezas de la parte superior (24-26, 29 y 32) quitando los tornillos (32).

De esta forma se completa el procedimiento de desmontaje del adaptador.

Montaje del adaptador

Para montar el adaptador en las columnas BPG 300, consulte la Figura A-3 y proceda de la siguiente forma:

- 1 Coloque los anillos de cierre (25) en el soporte del émbolo (26).
- 2 Ajuste la parte insertable del rodamiento de ajuste (29) al cuerpo del volante de ajuste (24) mediante los tornillos (32) a través del soporte del émbolo (26) de forma que el cuerpo del volante de ajuste gire en los anillos de cierre (25).
- 3 Coloque el resorte (38), la camisa interna del émbolo del adaptador (35) y el émbolo externo del adaptador (36) en la placa del adaptador (39) deslizándolos sobre ella.
- 4 Apriete el émbolo externo del adaptador (36) en la placa del adaptador (39) mediante los tornillos (37).
- 5 Coloque la unidad de cierre (30) en el émbolo externo del adaptador (36) deslizándolo sobre él.
- 6 En el sentido de las agujas del reloj, atornille aproximadamente 5 cm el conjunto de piezas de la brida (24 a 26, 29 y 32) en el émbolo externo del adaptador (36).
- 7 En el sentido de las agujas del reloj, gire el volante de bloqueo (23) sobre la parte superior del adaptador hasta que los orificios de la camisa interna del adaptador (35) estén alineados con los orificios del émbolo externo del adaptador (36).
- 8 Con los dedos, apriete los tornillos (31) en la mitad superior de la unidad de cierre (30), asegurándose de que queden correctamente alineados en los orificios, hasta que parezca una porción de la rosca del tornillo de 1 a 2 mm. Por último, apriete los tornillos con una llave de anillo.
- 9 Sitúe el tornillo guía (28) y la tuerca de cierre (27) en el soporte del émbolo (26). Gire el tornillo guía hasta que engarce la ranura en el émbolo externo del adaptador (36), impidiendo un movimiento lateral del tubo sin impedir el movimiento vertical. Bloquee el tornillo topo (28) en posición con la tuerca de cierre (28).
- 10 Monte la junta de cierre del adaptador (33/34) en la placa del adaptador (39).
- 11 Humedezca la malla del filtro (41/42) con etanol al 20% para eliminar todas las burbujas de aire atrapadas en ella. Si la malla del filtro está tensa, caliéntela con agua a 40 °C.
- 12 Monte la placa de distribución, (13) la malla de soporte (40) y la malla del filtro (41/42) en la placa del adaptador (39).

De esta forma se completa el procedimiento de montaje del adaptador BPG 300.

Montar un tubo de extensión (dispositivo del paquete)

El tubo de extensión se monta a la entrega. El montaje/desmontaje del tubo de extensión es igual al de la columna, con excepción de las pautas a seguir para el soporte.

Para montar un tubo de extensión en la columna BPG 300, consulte la Figura A-4 y proceda de la siguiente forma:

- 1 Retire el adaptador de la columna y coloque el tubo de extensión en la brida superior (5). Asegúrese de que la delgada junta de cierre está colocada correctamente en la brida.

- 2 Utilice la abrazadera de la brida para ajustar el tubo de extensión en la columna. La columna extendida está lista para usar en el primer paso de empaquetado de los procesos de empaquetado en dos etapas. La abrazadera extra suministrada con el tubo de extensión se utiliza para montar el adaptador en la extensión.

Nota: *No empaquete la columna a alturas de lecho superiores a la longitud de la columna, es decir, el adaptador debe sellar la pared de la columna, NO la pared del tubo de extensión. Se necesita un tubo de 10 cm de longitud para instalar el adaptador en el tubo de la columna si se retira la extensión de empaquetado.*

4.1.3 BPG 450

Desmontando la columna

Para desmontar la columna BPG 450, consulte la Tabla A-3 y la Figura A-5 del final del manual y proceda de la siguiente manera:

- 1 Afloje el sello del adaptador girando el volante (24).



¡ADVERTENCIA! Si el sello de la junta de cierre del adaptador está seco, un movimiento forzado del adaptador lo dañará. Humedezca la junta de cierre con agua o con una solución de etanol al 20%. NO engrase la junta de cierre.

- 2 Desplace el adaptador unos milímetros hacia abajo para aflojar la junta de cierre de la pared de vidrio. Luego desplácelo hacia arriba hasta donde pueda.
- 3 Retire los tornillos de fijación (26) y las arandelas de muelle (27). Afloje la tapa (17) y levante y saque el adaptador.

Nota: *El adaptador de las columnas BPG 450 es pesado. Por razones de seguridad, se recomienda que el adaptador se levante con un elevador de techo conectado con los pernos de anillo de la tapa de la columna.*

- 4 Afloje los tornillos de fijación (44) para separar el tubo de la columna (12) [incluidas las bridas (3)] de la base (1). Levante con cuidado el tubo de la columna y retírelo. Si la junta de cierre se adhiere al tubo de vidrio o a la base, humedézcalo con etanol al 20% y luego retírelo.
- 5 Para cambiar las juntas de sellado de la brida superiores e inferiores, afloje los tornillos de cabeza hexagonal (7) y levante y retire la brida superior. Retire el tubo de vidrio y sustituya la junta de cierre inferior. Vuelva a colocar el tubo de vidrio y ajuste la nueva junta de cierre superior. Por último, acople la brida superior. Alinee con cuidado el tubo de vidrio con las bridas.

De esta forma se completa el procedimiento de desmontaje del adaptador.

Montaje de la columna

Para montar la columna BPG 450, consulte la Figura A-5 y la Tabla A-3 y proceda de la siguiente forma:

- 1 Con respecto a la Figura 4-6, compruebe que las siguientes piezas estén colocadas correctamente en la base:
 - Placa de distribución (41)
 - Interruptor de resorte (36)
 - Malla de soporte (2)
 - Malla del filtro (5)
 - Sello en forma de U (4, montado en la malla del filtro)

Nota: Humedezca la malla del filtro con etanol al 20% para eliminar el aire atrapado.

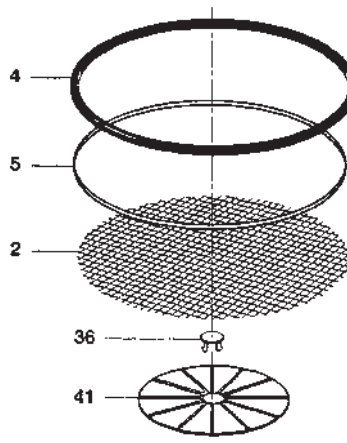


Fig 4-6. Situación de la base en las columnas BPG 450.

- 2 Coloque con cuidado el tubo de la columna (12) sobre el sello en forma de U (4). Asegúrese de que la brida (3) está centrada en el sello en forma de U.
- 3 Asegure el tubo a la base con los tornillos de fijación (44), apretándolos en una secuencia cruzada con la llave dinamométrica configurada a 8 Nm. Cada tornillo de fijación tiene que apretarse 3 veces.

¡ADVERTENCIA! Si aprieta demasiado fuerte estos tornillos de fijación (los que ajustan la brida (3) y las varillas (8)), el tubo de la columna se romperá. Utilice siempre una llave dinamométrica a 4 Nm para apretar estos tornillos de fijación. Consulte la Tabla 4-3 para especificaciones de la llave dinamométrica en la columna BPG 450.



Tabla 4-3. Especificaciones de las llaves dinamométricas para las columnas BPG 450.

| Artículo (Consulte su posición en la Fig. A-5) | Especificación de la llave dinamométrica |
|---|--|
| Tornillos de fijación de la tapa y de la base (26 y 27) | 8 Nm |
| Tubo de vidrio a bridas (3) y varillas (8) | 4 Nm |

Desmontaje del adaptador [Para sustituir la junta de cierre (32)]

Para sustituir la junta de cierre en las columnas BPG 450, consulte la Tabla A-3 y la Figura A-5, y proceda de la siguiente manera:

- 1 Quite las fijaciones del adaptador (39).
- 2 Levante y retire la tapa (17) y el émbolo del adaptador (29). Procure no doblar el tubo de entrada (31).
- 3 Retire el resorte (34).
- 4 Retire los tornillos (33) que sujetan el tubo de entrada.
- 5 Retire la junta de cierre vieja (32) y deséchela.

De esta forma se completa el desmontaje del adaptador.

Montaje del adaptador

- 1 Coloque la nueva junta de cierre (32) lubricada (etanol 20%) entre el tubo de entrada (31) y el adaptador (38). Apriete los tornillos de cabeza hexagonal (33).
- 2 Deslice el resorte (34) sobre el tubo de entrada.
- 3 Descienda con cuidado el tornillo del adaptador (29) y la tapa (17) sobre el tubo de entrada.
- 4 Atornille los tornillos de fijación (39) en el adaptador y apriételes.

Ahora el adaptador se ha vuelto a montar.

Montar un tubo de extensión (dispositivo del paquete)

El dispositivo de empaquetado de BPG 450 es un tubo de extensión de acero inoxidable.

Para montar el tubo de extensión en una columna BPG 450, proceda de la siguiente forma:

- 1 Retire el adaptador de la columna y coloque el tubo de extensión de acero inoxidable en la brida superior. Asegúrese de que la junta de cierre está colocada correctamente en la brida.
- 2 Utilice los tornillos de fijación entregados con el tubo de extensión para ajustar el tubo de extensión en la columna.

La columna extendida está lista para usar en el primer paso de empaquetado de los procesos de empaquetado en dos etapas.

Nota: Retire el tubo de extensión después del paso inicial de sedimentación. Inserte el adaptador y siga empaquetando. Se necesita un tubo de 15 cm de longitud para instalar el adaptador en el tubo de la columna si se retira la extensión de empaquetado.

4.2 Conexiones

Hay disponibles diversos conectores distintos para conectar las columnas BPG a diferentes tipos de tubos y sistemas (consulte el Capítulo 3 de la Guía de mantenimiento de columnas BPG).

Los accesorios de abrazaderas sanitizables, higiénicas de las columnas BPG permiten la CIP. Otros conectores son de polipropileno, con buena resistencia química. El diámetro exterior de todos los accesorios de abrazaderas BPG es de 25 mm. Se utilizan uniones de 51 mm con los kits de manómetro y válvula de seguridad.

4.3 Toma de tierra de la columna

Para evitar descargas de electricidad estática es necesario conectar a tierra la columna adecuadamente.

Nota: *El equipo debe estar conectado a tierra en el caso de que la columna vaya a ser utilizada en atmósferas potencialmente explosivas.*

Con este objetivo, se dispone de un kit de tierra adecuado, como accesorio y el soporte de la columna se acompaña de un terminal de conexión a tierra, como se muestra a continuación.

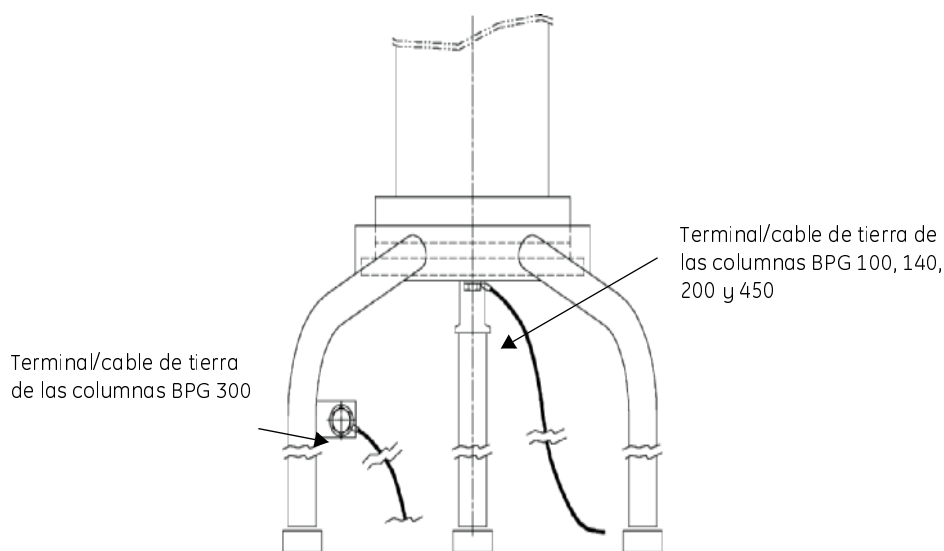


Fig 4-7. Toma de tierra en el soporte de la columna.

Para la toma de tierra de la columna, conecte uno de los extremos del cable de tierra a una de las tomas de tierra de la red de la planta, y el otro extremo a la toma de tierra de la columna situada en su soporte. La toma de tierra de la columna posee un cable M6.

4.4 Test de estanqueidad

Para el test de estanqueidad a través del adaptador:

- 1 Llene la columna con agua o solución de sanitización y luego coloque el adaptador en la columna a la misma altura a la que vaya a trabajar con la columna.
- 2 Selle el adaptador con el ajustador de sellado.
- 3 Elimine el aire atrapado en la columna.
- 4 Cierre la válvula de salida de la columna.

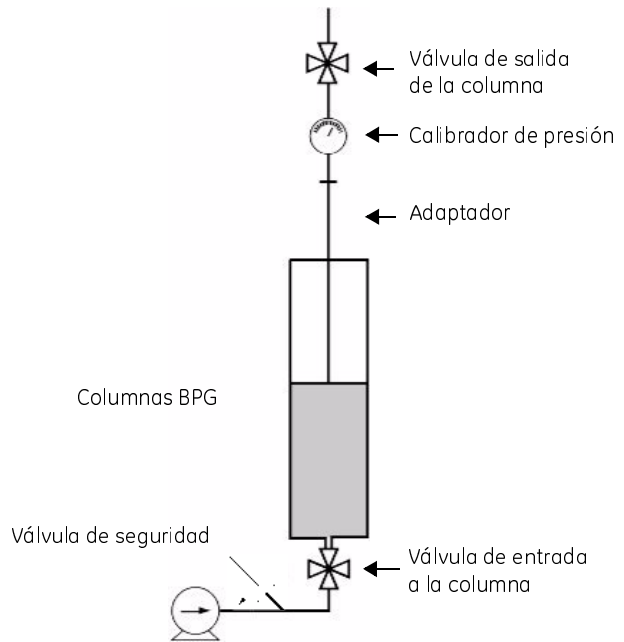


Fig 4-8. Representación esquemática de la columna, las válvulas y la bomba para el test de estanqueidad.

- 5 Eleve la presión hasta la presión máxima de trabajo.
- 6 Espere alrededor de 15 minutos hasta que se haya estabilizado la presión.
- 7 Compruebe el descenso de presión en el calibrador. La caída de la presión no debe superar 0,1 bar en el transcurso de 5 minutos. Para conocer la presión con más precisión consulte los datos que registra el controlador de presión.

Ello finaliza el test de estanqueidad.

5 Funcionamiento



¡ADVERTENCIA! Maneje la columna con cuidado, ya que las especificaciones de presión sólo son válidas si el tubo de vidrio está indemne y sin rasguños. Nunca introduzca aire o gas en la columna.

Nota: Antes de empaquetar la columna por primera vez, recomendamos que lave la columna y los tubos con solución CIP, p. ej., NaOH, para asegurarse de que todas las superficies están limpias. Consulte la Sección 1.3 de la Guía de mantenimiento de columnas BPG.

Para un rendimiento óptimo de las columnas BPG recomendamos los protocolos de empaquetado de la columna esquematizados en los siguientes párrafos. Antes de usar las columnas, le recomendamos que lea todo el capítulo.

5.1 Empaquetado de la columna

Existen diferentes métodos de empaquetado, dependiendo cada uno de la columna y del tipo de gel utilizado. Para las columnas BPG, recomendamos el método de empaquetado descrito en la subsección 5.1.5. El flujo de empaquetado óptimo depende de la temperatura, del tipo de gel, del lote y de la cantidad. Por consiguiente, para cada sistema individual, el flujo óptimo debe determinarse empíricamente mediante una curva de presión/flujo. Los métodos recomendados están descritos exhaustivamente en las secciones 5.1.3 y 5.1.5.

5.1.1 Cantidades de geles necesarias por cm de altura del lecho

Las cantidades de geles necesarias por cm de altura del lecho se presentan a continuación.

Tabla 5-1. Cantidad media necesaria para columnas BPG

| Gel | Cantidad de gel por litro de columna empaquetada | Cantidad de gel por centímetro de lecho empaquetado | | | | |
|-----------------------------------|--|---|---------|---------|---------|---------|
| | | BPG 100 | BPG 140 | BPG 200 | BPG 300 | BPG 450 |
| DEAE Sepharose Fast Flow | 1,25 l | 98 ml | 192 ml | 393 ml | 882 ml | 1,97 l |
| Sepharose Fast Flow | 1,25 l | 98 ml | 192 ml | 393 ml | 882 ml | 1,97 l |
| CM Sepharose Fast Flow | 1,25 l | 98 ml | 192 ml | 393 ml | 882 ml | 1,97 l |
| S Sepharose Fast Flow | 1,25 l | 98 ml | 192 ml | 393 ml | 882 ml | 1,97 l |
| Phenyl Sepharose Fast Flow | 1,25 l | 98 ml | 192 ml | 393 ml | 882 ml | 1,97 l |
| Sephadex G-25 grados C y M | 250 g | 19,6 g | 38,2 g | 78,5 g | 176 g | 394 g |
| Sephadex G-25 SF | 280 g | 22,0 g | 42,9 g | 88,0 g | 198 g | 443 g |
| Sepharose 4 y 6 Fast Flow | 1,20 l | 94 ml | 183 ml | 377 ml | 847 ml | 1,89 l |
| Sephacryl High Resolution | 1,25 l | 98 ml | 192 ml | 393 ml | 882 ml | 1,97 l |
| Superdex 75 y 200 grado prep | 1,20 l | 94 ml | 183 ml | 377 ml | 847 ml | 1,89 l |
| Q y SP Sepharose High Performance | 1,20 l | 94 ml | 183 ml | 377 ml | 847 ml | 1,89 l |
| Phenyl Sepharose High Performance | 1,20 l | 94 ml | 183 ml | 377 ml | 847 ml | 1,89 l |

5.1.2 Tamaños de malla recomendados

Es importante seleccionar las mallas apropiadas para el adaptador y la base. Se dispone de mallas con porosidades de 10, 12, 23 y 54 μm . Un tamaño inadecuado de la malla puede producir problemas de retropresión o pérdidas del gel. Los tamaños de malla recomendados son los siguientes:

Tabla 5-2. Tamaños de malla recomendados para columnas BPG

| Tamaño de malla (μm) | Material | Tamaño de cuenta (μm) |
|-----------------------------------|-------------------|------------------------------------|
| 10 | PA ¹ | < 70 |
| 12 | PEEK ² | < 70 |
| 23 | PP ³ | FF-gel |
| 54 | PP ³ | BB-gel |

¹ Poliamida

² Poli-éter-éter cetona

³ Polipropileno

5.1.3 Determinación del flujo de empaquetado óptimo

Para establecer el flujo de empaquetado óptimo para columnas BPG, proceda de la siguiente forma:

PASO 1

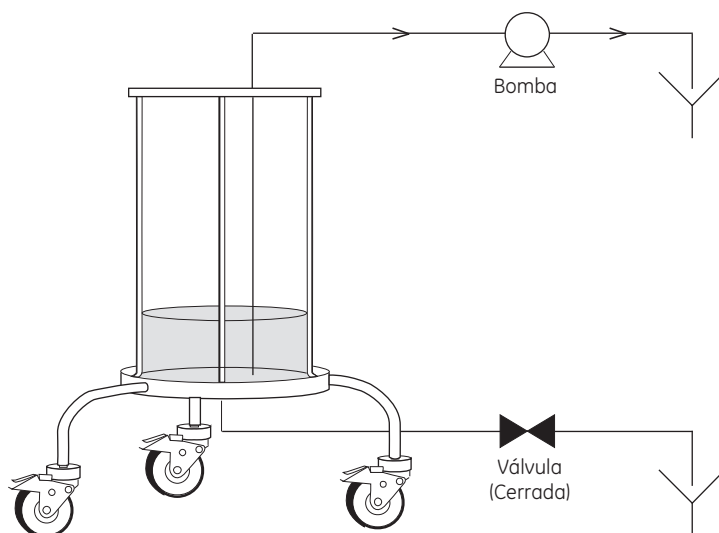


Fig 5-1. Determinación del flujo de empaquetado óptimo, paso 1.



¡ADVERTENCIA! Intente siempre mantener los líquidos peligrosos en recipientes cerrados para evitar la presencia de gas o un vertido en la zona de trabajo.

PASO 1

- Humedezca el filtro de la columna con etanol al 20% para eliminar el aire atrapado.
- Llene la columna con 10–15 cm de tampón de empaquetado.
- Drene los tubos para eliminar todas las burbujas de aire.
- Conecte un tubo en el lado de succión de una bomba.
- Ponga la bomba en marcha, coloque el tubo sobre la malla inferior y extraiga las burbujas de aire atrapadas bajo la malla.

PASO 2

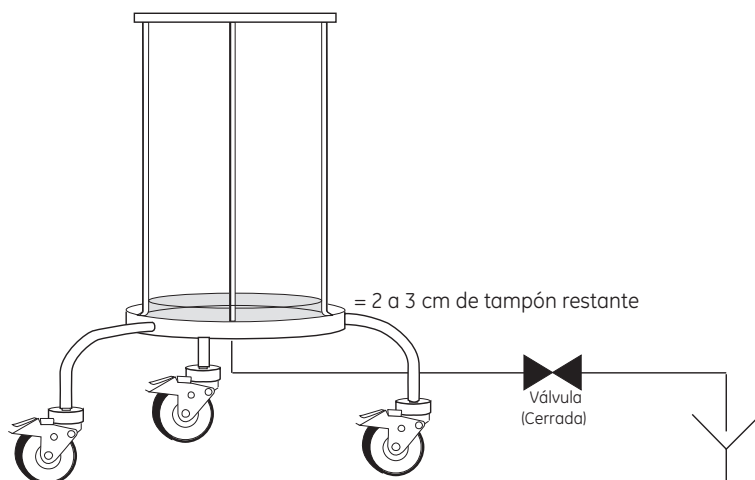


Fig 5-2. Determinación del flujo de empaquetado óptimo, paso 2.

PASO 2

- Siga bombeando tampón (y aire) hasta que sólo queden 2-3 cm de tampón en la columna.
- Use un nivel para comprobar que la columna está horizontal. Corríjalo con las ruedas/pies ajustables si es necesario.

PASO 3

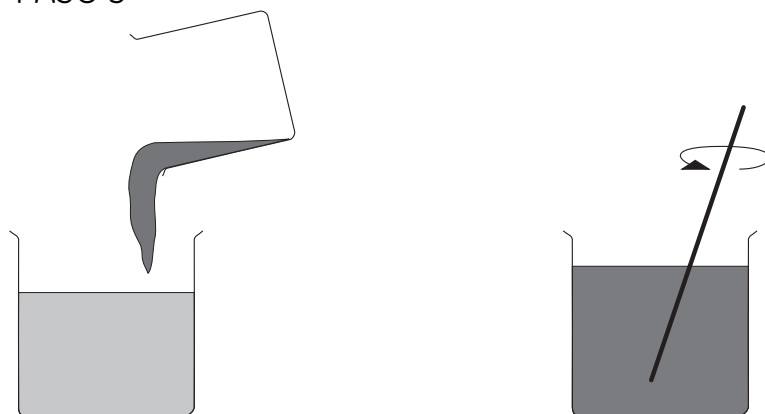


Fig 5-3. Determinación del flujo de empaquetado óptimo, paso 3.

PASO 3

- a. Mezcle el tampón de empaquetado con el gel para formar una suspensión al 75%, es decir, volumen empaquetado/volumen suspendido = 0,75.

Nota: Este volumen de suspensión es adecuado para geles BioProcess. Para otros geles de cromatografía, compruebe el volumen de suspensión recomendado con su proveedor.

PASO 4

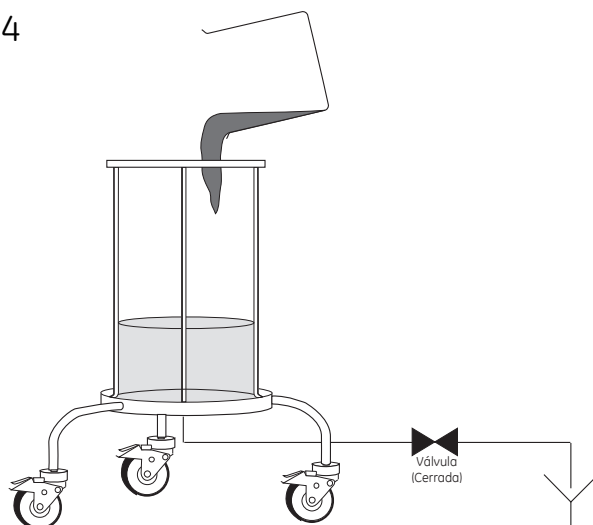


Fig 5-4. Determinación del flujo de empaquetado óptimo, paso 4.

PASO 4

- a. Vierta con cuidado la suspensión homogénea en la columna. Asegúrese de que no queda ninguna burbuja de aire atrapada en la suspensión.

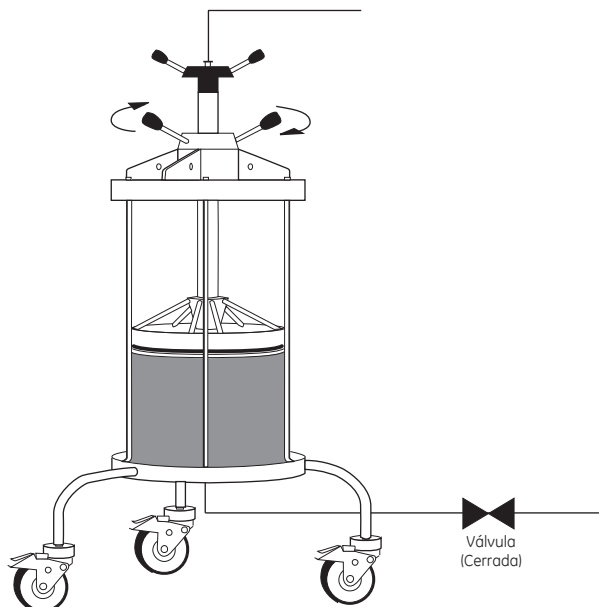
PASO 5

Fig 5-5. Determinación del flujo de empaquetado óptimo, paso 5.

PASO 5

Nota: Este paso debe realizarse rápidamente para que el gel no sedimente completamente.

- a. Inserte el adaptador.
- b. Use los cuatro tornillos de fijación (BPG 100, 140 y 200) o la abrazadera del adaptador de la placa superior (BPG 300 y 450) para fijar la brida de la columna en su posición.
- c. Use el volante ajustador de altura para colocar el adaptador 1-5 mm por debajo de la superficie superior del líquido.

PASO 6

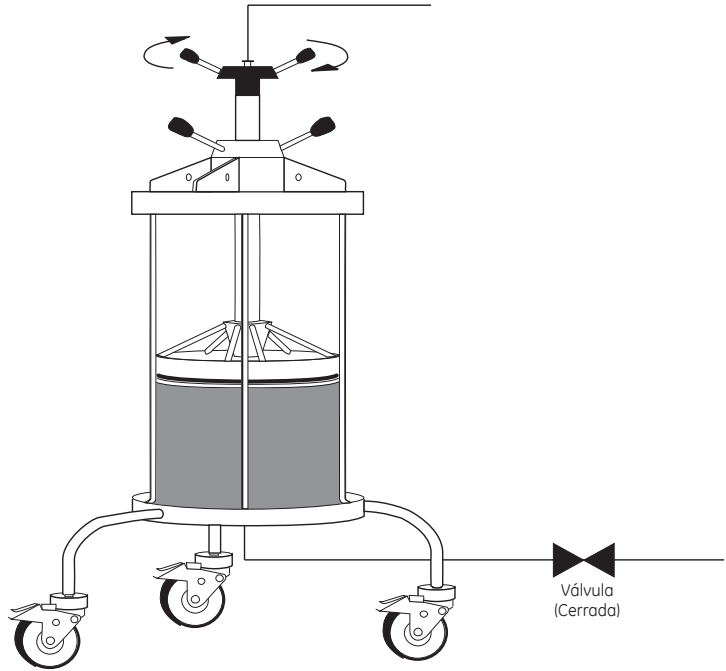


Fig 5-6. Determinación del flujo de empaquetado óptimo, paso 6.

- Asegure la junta de cierre del adaptador girando la tuerca de ajuste selladora (BPG 100, 140 y 200) o el asa (BPG 300 y 450) sobre la parte superior del adaptador, en el sentido de las agujas del reloj.
- Con la junta de cierre sellada, descienda el adaptador, llenándolo con tampón para expulsar el aire que esté dentro del tubo del adaptador. El tubo del adaptador estará lleno cuando el tampón cree un menisco y no haya burbujas de aire.

PASO 7

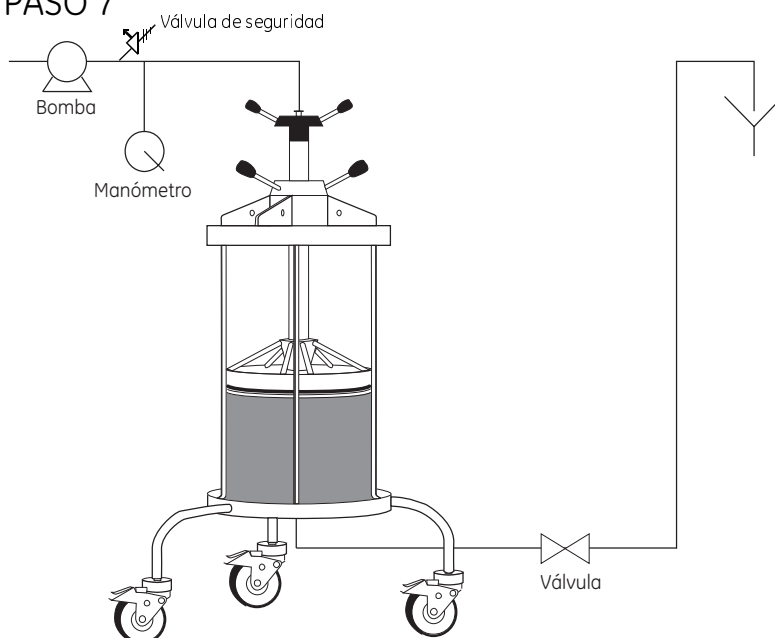


Fig 5-7. Determinación del flujo de empaquetado óptimo, paso 7.

PASO 7



¡ADVERTENCIA! Utilice siempre una válvula de seguridad conectada directamente después de la bomba.

- Ponga en marcha la bomba y elimine el aire de los tubos desde la bomba, bombeando con un flujo bajo.
- Durante el bombeo con un flujo bajo, conecte un manómetro entre la bomba y la columna y luego, conecte los tubos a la parte superior de la columna.
- Abra la válvula inferior.
- Establezca una curva de presión/flujo empezando con un flujo bajo. El gel empezará a sedimentar, dejando un espacio claro entre el lecho y el adaptador. NO ajuste el adaptador.
- Aumente lentamente la presión y registre el flujo una vez estabilizada la presión. El tiempo que tarda en estabilizarse la presión depende del tipo de gel; puede tardar desde unos minutos hasta unas horas.
- Siga aumentando la presión hasta que se alcance la meseta del flujo (una presión aumentada no da flujos más altos). No se producirá meseta en el caso de algunos geles rígidos. En estos casos, utilice un flujo con la presión máxima permitida para la columna.
- La determinación concluirá una vez alcanzada la presión máxima.

PASO 8

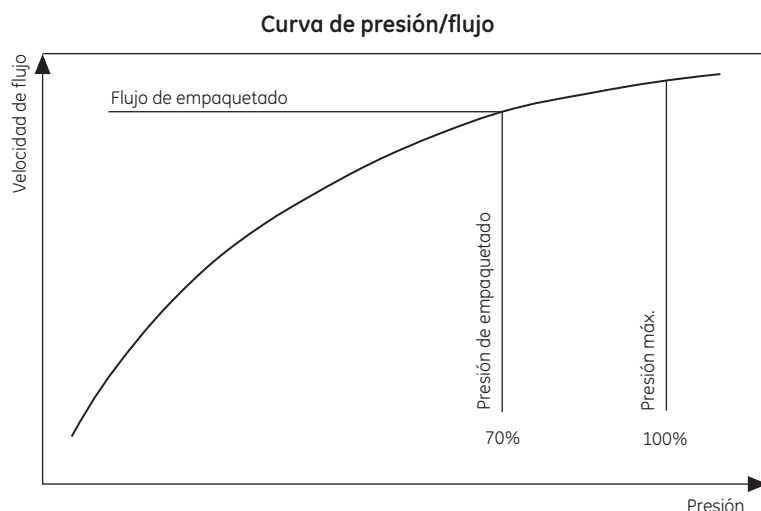


Fig 5-8. Determinación del flujo de empaquetado óptimo, paso 8.

PASO 8

- a. Represente gráficamente la presión contra el flujo, según se indica en el ejemplo anterior. El flujo de empaquetado óptimo es un 70-100% del flujo máximo. No se producirá meseta en el caso de algunos geles rígidos; en estos casos, utilice un flujo con la presión máxima permitida para la columna.

5.1.4 Flujos de empaquetado recomendados para geles Amersham Biosciences

Esta información se encuentra en las instrucciones que acompañan a cada gel suministrado. Sin embargo, para un empaquetado óptimo, recomendamos determinar una curva de presión/flujo con cada lote de geles, columna o configuraciones del sistema, tal y como se describe en la sección 5.1.3.

5.1.5 Método de empaquetado de la columna

Este método de empaquetado puede utilizarse con los geles BioProcess y se basa en la aplicación de un flujo constante a través de la columna. Para preparar el procedimiento de empaquetado de la columna, proceda de la siguiente forma:



¡ADVERTENCIA! Utilice siempre una válvula de seguridad conectada directamente después de la bomba.

PASO 1. Confirme que se ha establecido el flujo óptimo para la combinación de equipo, columna, tipo de gel y cantidad (consulte la sección 5.1.3).

PASO 2. Compruebe que dispone de suficiente tampón de empaquetado. Un tampón de empaquetado típico es NaCl 0,1M. Sin embargo, compruebe siempre las instrucciones de los geles para tampones de empaquetado.

PASO 3. Humedezca las mallas con etanol al 20% para eliminar el aire atrapado en las mismas.

PASO 4. Ajuste el flujo de la bomba al flujo del empaquetado, sin conectar la columna a la bomba. Registre la velocidad de la bomba para iniciar el empaquetado al flujo correcto.

PASO 5. Si el gel ya está en la columna, levante el adaptador, agite con cuidado el gel y repita los pasos 5 y 6 de la sección 5.1.3. Si el gel no está en la columna, repita los pasos 1 al 6 de la sección 5.1.3.

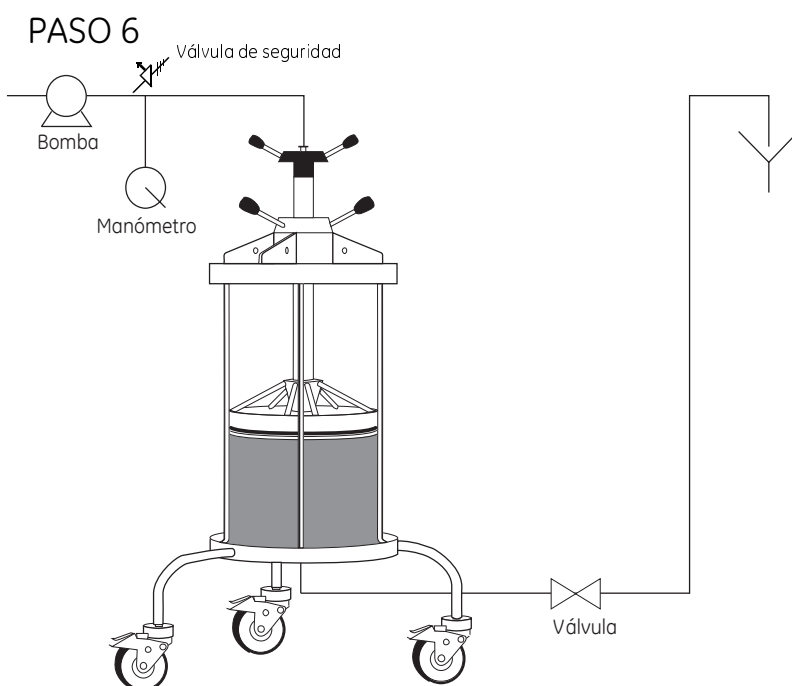


Fig 5-9. Método de empaquetado de la columna, paso 6.

PASO 6

- Ponga en marcha la bomba.
- Elimine las burbujas de aire de los tubos desde la bomba, bombeando con un flujo bajo.
- Durante el bombeo con un flujo bajo, conecte el manómetro entre la bomba y la columna; luego, conecte los tubos a la parte superior de la columna.
- Abra la válvula inferior.
- Ajuste el flujo al flujo predefinido.
- Mida el flujo a intervalos regulares y ajústelo si es necesario. La retropresión del lecho aumentará y reducirá el flujo a medida que se empaque el gel.
- Asegúrese de que la presión, que aparece en el manómetro, no supera la presión máxima del gel (consulte el manual de usuario para cada gel) o de la columna.

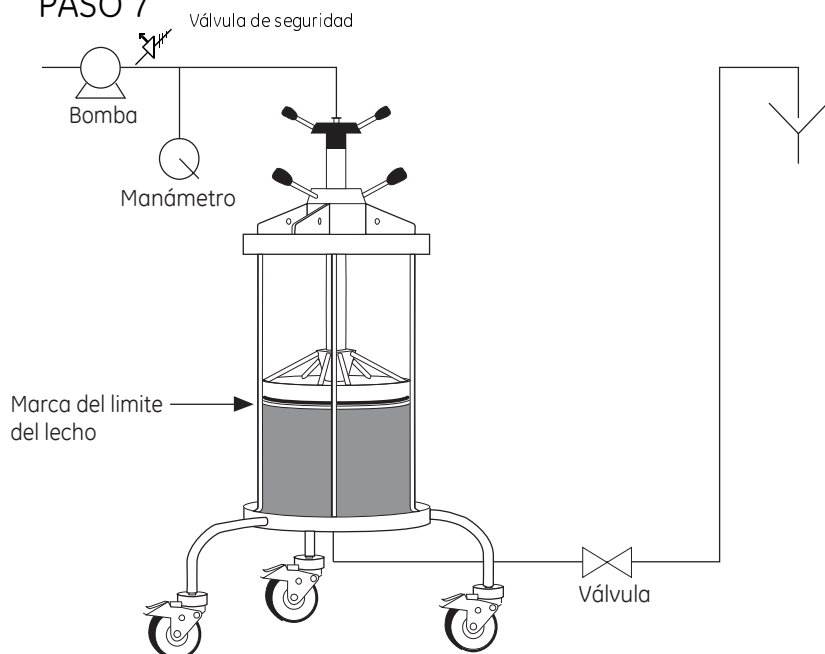
PASO 7

Fig 5-10. Método de empaquetado de la columna, paso 7.

PASO 7

- Marque el límite superior del lecho una vez éste haya sedimentado.
- Pare la bomba.
- Cierre la válvula inferior.
- Afloje el sello de la junta de cierre del adaptador girando la tuerca de ajuste (BPG 100, 140 y 200) o el asa ajustadora de sellado (BPG 300 y 450) sobre la parte superior del adaptador, en sentido contrario a las agujas del reloj.

PASO 8

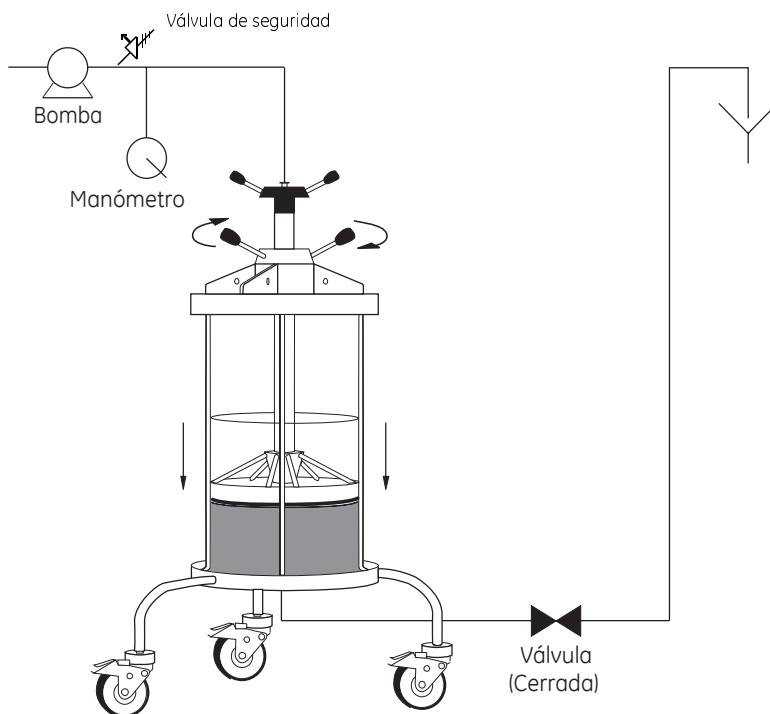


Fig 5-11. Método de empaquetado de la columna, paso 8.

PASO 8

- a. Descienda rápidamente el adaptador girando el asa ajustadora de la altura en sentido contrario a las agujas del reloj. El tampón existente entre el lecho sedimentado y el adaptador pasa a través de la junta de cierre del adaptador y la pared de la columna. El lecho empezará a subir durante esta operación. Deje de descender el adaptador cuando esté 0,5 a 1 cm por encima del lecho.

PASO 9

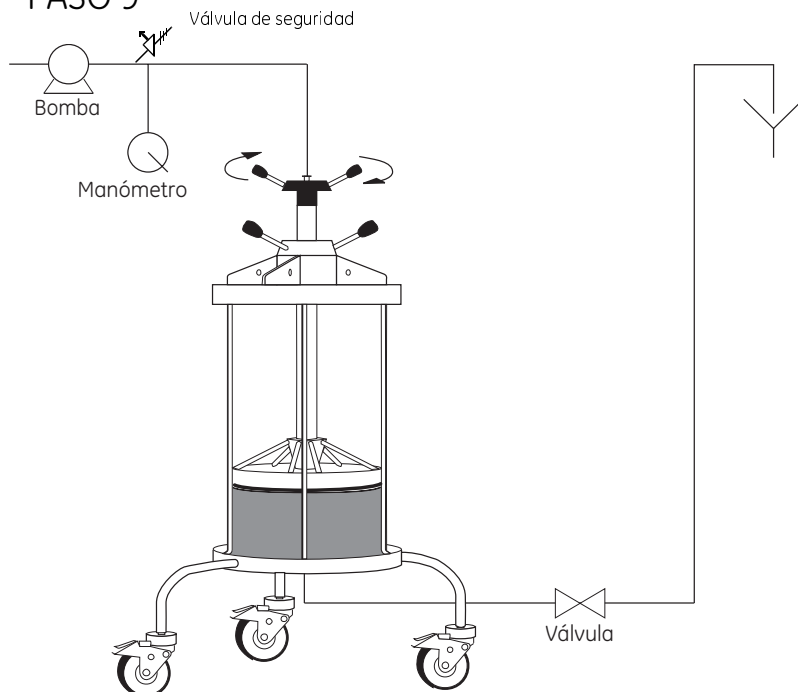


Fig 5-12. Método de empaquetado de la columna, paso 9.

PASO 9

- Ajuste la junta de cierre del adaptador girando el mando (BPG 100, 140 y 200) o el asa ajustadora de sellado (BPG 300 y 450), en el sentido de las agujas del reloj.
- Abra la válvula inferior.
- Ponga en marcha la bomba.
- Ajuste el flujo al recomendado para el empaquetado. Compruebe el manómetro para asegurarse de que la presión no supera la presión máxima del gel (consulte el manual de usuario para cada gel). El lecho se volverá a comprimir hasta el nivel de la marca en la columna (realizado en el paso 7).
- Repita los pasos 7 y 8 hasta que el adaptador alcance la marca en la columna.

Nota: No abra la junta de cierre del adaptador cuando quede un máximo de 1 cm de líquido. En su lugar, utilice el asa ajustadora de la altura para atornillar el adaptador hasta el último centímetro restante. Nunca descienda el adaptador más de 5 mm como máximo dentro del lecho. Desconecte los tubos de la parte superior de la columna para poder eliminar el exceso de tampón a través de la parte superior del adaptador.

Ello finaliza el procedimiento de empaquetado de la columna. Limpie los restos de tampón o suspensión desde la parte superior del adaptador. El espacio existente entre la cabeza del adaptador y la parte superior de la columna debe estar seco y limpio o llenarse con etanol al 20% para prevenir el crecimiento bacteriano.

Nota: *Compruebe siempre el rendimiento de la columna empaquetada antes de utilizarla. Consulte las instrucciones de este procedimiento en la sección 5.2 que aparece a continuación.*

5.2 Evaluación de la columna

La eficiencia de la columna depende del grado de empaquetado. Una columna mal empaquetada da lugar a un flujo irregular, un ensanchamiento de la zona y una reducción de la resolución. Por tanto, es importante tener un método mediante el que pueda examinarse la columna antes de su puesta en funcionamiento. Dicho método debe ser simple, cuantitativo y no debería introducir materiales contaminantes. También es una ventaja que pueda utilizarse el mismo método para controlar el rendimiento de la columna durante su periodo activo, de forma que sea fácil determinar cuándo debe reempaquetarse o sustituirse el gel.

Deben evitarse métodos que utilicen colorantes como azul dextrano, ya que no cumplen los criterios anteriores y no pueden utilizarse con geles de cromatografía de afinidad o de intercambio iónico.

La experiencia ha demostrado que el mejor método para expresar la eficiencia de una columna es en cuanto a la altura equivalente a una placa teórica, HETP, y el factor de asimetría del pico A_s . Estos valores pueden determinarse fácilmente aplicando a la columna una muestra de solución de NaCl o de acetona por ejemplo.

Es importante que la columna esté equilibrada de forma adecuada antes de evaluar el empaquetado (2 volúmenes de columna). Es preferible realizar tres carreras de prueba para ver si los valores del test son o no estables. Si un mal resultado mejora durante esta prueba, la razón puede ser que la columna no estuviera debidamente equilibrada. Para comprobar que el lecho es estable, haga funcionar la columna a un presión del 70% del empaquetado durante 20 horas y vuélvala a probar (preferiblemente tres carreras de prueba).

Tenga en cuenta que los picos de presión pueden producir un mal empaquetado (agrietamiento). Si sucede, se necesita una trampa del aire y una válvula despresurizadora entre la bomba y la columna. Esta válvula se situará entre la trampa de aire y la columna.

5.2.1 Elección de la muestra de prueba para columnas

El material más adecuado para realizar el test en la columna es la muestra que tiene que analizarse, aunque esto no siempre es práctico ni económico. Como alternativa, puede utilizarse una solución de NaCl o acetona para obtener una buena aproximación de la calidad del empaquetado de la columna. El eluido se controla midiendo la conductividad o la absorción UV, y el perfil resultante de elución se utiliza para calcular el valor de HETP.

Las ventajas de utilizar la solución de NaCl es que se puede conseguir con facilidad y emplearse con total seguridad para realizar tests en cualquier columna. Una desventaja es que el NaCl puede interaccionar con la matriz del gel, especialmente en matrices de intercambio iónico y dar, por tanto, resultados erróneos.

Sin embargo, la acetona no interacciona con la matriz y se detecta por absorción UV a 280 nm. Alternativamente, se puede aumentar 10 veces la concentración del tampón y utilizarse como solución test.

En la Fig. 5-13 se presenta un trazado UV de acetona en una aplicación típica de una columna BPG y da los valores calculados de HETP y A_s .

Columna: BPG 300
Gel: Sepharose 6 Fast Flow
Altura del lecho: 57,5 cm
Volumen del lecho: 40,6 litros
Eluyente: Agua destilada
Muestra: 1,05 litros
(acetona 1%, NaCl 1%)
Índice de flujo: 19 cm/h
 $V_e = 18,8$
 $W_h = 0,9$
HETP = 0,024 cm
 $a = 0,90$
 $b = 0,85$
 $b/a = 0,85/0,90$
 $A_s = 0,94$

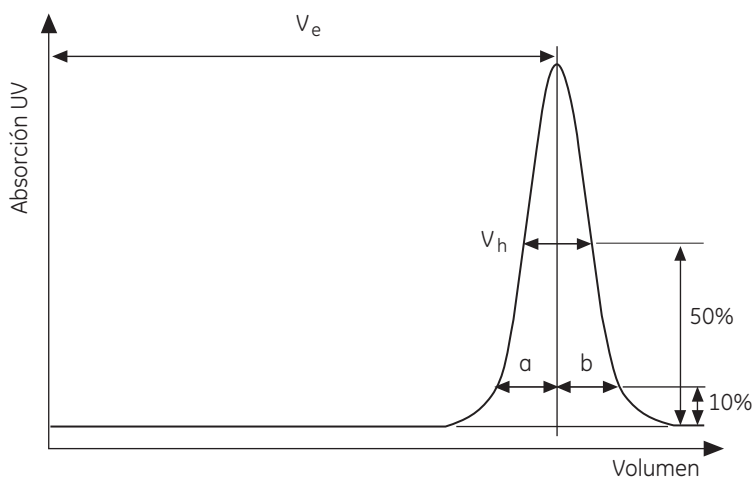


Fig 5-13. Cromatograma de prueba que muestra los cálculos de HETP y A_s .

5.2.2 Cálculo de HETP

El volumen de la muestra debería ser aproximadamente un 1% del volumen total del lecho, y la concentración de NaCl 1,0% v/v o equivalente cuando se utilice una solución tampón de alta concentración. Alternativamente puede utilizarse acetona 1,0% v/v. El flujo lineal debe ser de 30 cm/h para geles de 34 μm y 50 μm y de 20 cm/h para geles de 90 μm . Para evitar la dilución de la muestra, aplíquela

tan cerca de la entrada de la columna como sea posible. Si queda aire atrapado dentro del sistema, cuando aplique la muestra debe evitar que pase a su través para que no se mezcle con él. Calcule el valor de HETP a partir de la curva de conductividad (o UV) de esta forma:

En términos simples, la HETP se expresa como:

$$\text{HETP} = L/N$$

donde,

L = Altura del lecho (cm)

N = Número de placas teóricas.

N viene definida por la ecuación:

$$N = 5,54 (V_e / W_h)^2$$

donde,

V_e = Volumen de elución (ml)

W_h = Anchura del pico a la mitad de la altura (ml)

V_e se mide como el volumen pasado a través de la columna desde la mitad de la aplicación de la muestra hasta el pico máximo.

W_h se mide como la anchura en la mitad de la altura del pico (desde la base al vértice).

Siguiendo el ejemplo de la Fig. 5-13, el valor de HETP puede calcularse a partir del cromatograma de la siguiente forma:

Tabla 5-3. Cálculos de HETP.

| | V_e (ml) | W_h (ml) | N | N/m | HETP cm |
|---------|---------------------------|---------------------------|----------|------------|----------------|
| Acetona | 18800 | 900 | 2417 | 4203 | 0.024 |

Una columna bien empaquetada tendrá valores de HETP bajos. Sin embargo, sólo es posible comparar columnas que se hayan empaquetado con el mismo tipo de gel y a las que se hayan realizado tests bajo las mismas condiciones.

Como regla empírica general, el valor de HETP es bueno si equivale aproximadamente a dos/cuatro veces el diámetro medio de las cuentas del gel que se esté utilizando, siempre y cuando la muestra no interaccione con él.

En la práctica, la correlación entre el valor de HETP y el rendimiento de la columna sólo puede ser evaluada por el operador de la columna. Una vez establecido, puede fijarse un estándar para juzgar la aceptabilidad del empaquetado de una columna.

Por ejemplo, el operador de la columna puede saber, por experiencia, que una columna empaquetada con gel Sephadex G-25 con valores de HETP superiores a 0,05 cm no da la separación requerida. Por consiguiente, el operador de la columna establecerá este valor al máximo permisible, es decir, la calidad mínima aceptable.

5.2.3 Cálculo del factor de asimetría del pico

El contorno del pico debería ser lo más simétrico posible. Es lo que suele suceder en el caso de geles de filtración, pero en el de geles de intercambio de iones y de afinidad puede ser asimétrico, debido a interacciones con el gel.

Un cambio en el contorno del pico suele ser la primera indicación de un deterioro de la columna. El valor del factor de asimetría del pico debería ser lo más cercano posible a 1.

El factor de asimetría del pico, A_s , se calcula a partir del gráfico de la Fig. 5-13 de la siguiente forma:

$$A_s = b/a$$

donde,

a = distancia desde el vértice del pico hasta el 10% de la altura del pico en el lado ascendente del mismo

b = distancia desde el vértice del pico hasta el 10% de la altura del pico en el lado descendente del mismo

Nota: El cálculo de los valores de HETP y A_s es la mejor forma de evaluar el estado de la columna empaquetada. Una columna empaquetada puede parecer que está bien, aunque será necesario volver a empaquetarla para obtener unas óptimas prestaciones. No olvide examinar la columna después de empaquetarla y periódicamente entre diferentes carreras para asegurar unas prestaciones óptimas.



6 Abreviaturas

Las abreviaturas utilizadas en este manual se definen a continuación:

| | |
|------|--|
| As | Factor de asimetría del pico |
| CIP | "Cleaning-in-place" |
| EPDM | Etilen-propileno |
| FEP | Fluoro-eteno-propeno |
| FF | Fast Flow |
| HETP | Altura equivalente a un plato teórico |
| HR | Alta resolución |
| ID | Diámetro interno |
| IEX | Cromatografía de intercambio iónico |
| L | Altura del lecho |
| N | Número de platos teóricos |
| PA | Poliamida |
| PEEK | Poli-éter-éter-cetona |
| POM | Plástico acetal |
| PP | Polipropileno |
| PTFE | Poli-tetra-fluoro-etano |
| PVC | Cloruro de polivinilo |
| THF | Tetrahidrofurano |
| UV | Ultravioleta |
| Ve | Volumen de elución |
| Wh | Anchura del pico a la mitad de su altura |
| PFR | Goma perfluoro |
| FPM | Goma fluorocarbono |

Tabla A-1: Componentes de las columnas BPG 100, 140 y 200. Los números de los artículos se refieren a las Figuras A-1 y A-2.

| Artículo n.º | Descripción | Material | ¿En contacto con líquido del proceso? | Cant/ paq | BPG 100 N.º ref. | BPG 140 N.º ref. | BPG 200 N.º ref. |
|--------------|---------------------------------------|---------------------|---------------------------------------|-----------|------------------|------------------|------------------|
| 1 | Tubo de la columna 500 | Vidrio borosilicado | X | 1 | 18-0251-01 | 18-1112-95 | 18-1152-01 |
| | Tubo de la columna 750 | Vidrio borosilicado | X | 1 | 18-0251-02 | - | 18-1152-02 |
| | Tubo de la columna 950 | Vidrio borosilicado | X | 1 | 18-0251-03 | 18-1112-96 | 18-1152-03 |
| 2 | Varilla para tubo 500 | 316 | | 1 | 18-1105-80 | 18-1105-83 | 18-1105-83 |
| | Varilla para tubo 750 | 316 | | 1 | 18-1105-81 | - | 18-1105-84 |
| | Varilla para tubo 950 | 316 | | 1 | 18-1105-82 | 18-1105-85 | 18-1105-85 |
| 3 | Segmento de ajuste | PTFE | | 1 | 18-0251-22 | 18-1112-97 | 18-0252-22 |
| 4 | Malla, 54 µm, base | PP | X | 2 | 18-1126-97 | 18-1126-99 | 18-1127-01 |
| | Malla, 23 µm, base | PP | X | 2 | 18-9252-01 | 18-1113-00 | 18-9254-01 |
| | Malla, 10 µm, base | PA | X | 2 | 18-0251-77 | 18-1113-02 | 18-0252-77 |
| | Malla, 12 µm, base | PEEK | X | 2 | 18-1148-38 | 18-1148-40 | 18-1148-42 |
| 5 | Malla de soporte, base | PP | X | 2 | 18-0251-55 | 18-1112-98 | 18-0252-55 |
| 6 | Reborde de la junta de cierre | EPDM | X | 2 | 18-8494-01 | 18-1113-06 | 18-8489-01 |
| 7 | Reborde de la junta de cierre | FEP | X | 1 | 18-0019-41 | 18-1113-07 | 18-0019-51 |
| 8 | Tuerca, M6 | 316 | | 5 | 19-1582-01 | - | - |
| | Tuerca, M8 | 316 | | 5 | - | 19-0763-01 | 19-0763-01 |
| 9 | Arandela de muelle | 316 | | 4 | 18-8482-01 | 18-8482-01 | 18-8482-01 |
| 10 | Brida | 316 | | 1 | 18-1134-21 | 18-1113-21 | 18-1134-22 |
| 11 | Espiga inclinable de la columna | PTFE | | 8 | 18-1134-21 | - | 18-1134-22 |
| 12 | Pieza de remate | 316 L | X | 1 | 18-1144-18 | 18-1113-20 | 18-1112-62 |
| 13 | Fijación, M8 x 12 | 316 | | 4 | - | 18-1113-28 | 18-1113-28 |
| 14 | Arandela de muelle | 316 | | 4 | 18-1143-26 | 18-1113-29 | 18-1113-29 |
| 15 | Soporte, completo | 316 L | | 1 | 18-1031-10 | 18-1031-20 | 18-1031-20 |
| 16 | Abrazadera, 25 mm | 304 | | 1 | 18-1001-31 | 18-1001-31 | 18-1001-31 |
| 17 | Tuerca de ajuste | PEEK | | 1 | 18-1109-27 | 18-1109-27 | 18-1109-27 |
| 18 | Tuerca ciega | 316 | | 4 | 18-1143-25 | 18-1113-27 | 18-1113-27 |
| 19 | Tuerca de ajuste, cuerpo | 316 | | 1 | 11-0003-01 | 18-1113-26 | 18-1113-26 |
| 20 | Segmento de cierre | POM | | 2 | 18-0264-01 | 18-0267-01 | 18-0267-01 |
| 21 | Brida | 316 | | 1 | 18-1143-24 | 18-1113-24 | - |
| 22 | Tuerca de ajuste, inserto | PEEK | | 1 | 18-0251-20 | 18-0252-20 | 18-0252-20 |
| 23 | Tornillo de cabeza hexagonal, M8 x 45 | 316 | | 5 | 19-6375-01 | 19-6375-01 | 19-6375-01 |
| 24 | Tornillo de cabeza hexagonal, M4 x 14 | 316 | | 5 | 19-6356-01 | 19-6356-01 | 19-6356-01 |
| 25 | Pieza de bloqueo de giro | 316 | | 1 | - | 18-1113-25 | 18-1113-25 |
| 26 | Tornillo con adaptador de cabeza | 316 | | 3 | 18-8457-01 | 18-8457-01 | 18-8457-01 |
| 27 | Unidad de cierre | 316 L | | 1 | 18-1147-47 | 18-1113-31 | 18-1147-48 |
| 28 | Adaptador de la junta de cierre | EPDM | X | 2 | 18-8475-01 | 18-1113-10 | 18-0275-01 |
| 29 | Adaptador de la junta de cierre | FEP | X | 1 | 18-0019-40 | 18-1113-11 | 18-0019-50 |
| 30 | Camisa del adaptador | 316 | | 1 | 18-1113-23 | 18-1113-23 | 18-1113-23 |
| 31 | Tubo adaptador externo | 316 | | 1 | 18-1134-83 | 18-1134-83 | 18-1134-83 |
| 32 | Tornillo, M6 x 12 | 316L/PTFE | | 3 | 18-1145-08 | 18-1145-08 | 18-1145-08 |
| 33 | Resorte | 316/PTFE | | 1 | 18-8491-01 | 18-8491-01 | 18-8491-01 |
| 34 | Placa del adaptador** | S31803*** | X | 1 | 18-1112-80 | 18-1113-30 | 18-1112-81 |
| 35 | Malla de soporte, adaptador | PP | X | 2 | 18-1103-04 | 18-1112-99 | 18-0252-56 |
| 36 | Malla, 54 µm adaptador | PP | X | 2 | 18-1126-96 | 18-1126-98 | 18-1127-00 |
| | Malla, 23 µm adaptador | PP | X | 2 | 18-1103-08 | 18-1113-01 | 18-9253-01 |
| | Malla, 10 µm adaptador | PA | X | 2 | 18-1103-05 | 18-1113-03 | 18-0252-76 |
| | Malla, 12 µm adaptador | PEEK | X | 2 | 18-1148-37 | 18-1148-39 | 18-1148-41 |
| 37 | Junta 25 mm | EPDM | X | 2 | 18-0019-27 | 18-0019-27 | 18-0019-27 |
| 38 | Patas, soporte | 316 | | 1 | 18-1126-93 | 18-1126-93 | 18-1126-93 |
| 39 | Rueda | - | | 3 | 18-1001-09 | 18-1001-09 | 18-1001-09 |
| 40 | Válvula de 4 conexiones, 2 vías | 316L/PTFE | X | 1 | 18-5757-01 | 18-5757-01 | 18-5757-01 |
| 41 | Tubos* | - | X | 1 | - | - | - |
| 42 | Arandela de muelle | PP | | 1 | 18-1142-79 | NA | NA |
| 43 | Arandela de muelle | PP | | 1 | 18-1142-80 | 18-1142-80 | 18-1142-80 |

* Consulte la Tabla 3-3 en la Guía de mantenimiento de BPG; ** Tubo i.d. 4 mm (BPG 100), 6 mm (BPG 140 y 200); *** Comparable a 316L

Tabla A-2: Componentes de las columnas BPG 300. Los números de los artículos se refieren a las Figuras A-3 y A-4.

| Artículo n.º | Descripción | Código número | Material | ¿En contacto con líquido del proceso? | Cant/paq |
|--------------|--|---------------|---------------------|---------------------------------------|----------|
| 1 | Brida del adaptador | 18-1012-48 | 316 | | 1 |
| 2 | Tuerca, M12 | 18-1012-24 | 316 | | 6 |
| 3 | Arandela de muelle | 18-1012-25 | 316 | | 6 |
| 4 | Tuerca, M10 | 18-1012-44 | 316 | | 5 |
| 5 | Brida | | 316 | | |
| 6 | Junta de cierre 301 x 6 mm | 18-1012-26 | EPDM | X | 2 |
| 7 | Junta de cierre 301 x 6 mm | 18-1012-27 | FEP | X | 1 |
| 8 | Varilla para T300/500 | 18-1012-31 | 316 | | 1 |
| | Varilla para T300/750 | 18-1012-32 | 316 | | 1 |
| | Varilla para T300/950 | 18-1012-33 | 316 | | 1 |
| 9 | Tubo de la columna T300/500 | 18-1012-28 | Vidrio borosilicado | X | 1 |
| | Tubo de la columna T300/750 | 18-1012-29 | Vidrio borosilicado | X | 1 |
| | Tubo de la columna T300/950 | 18-1012-30 | Vidrio borosilicado | X | 1 |
| 10 | Malla, 23 µm, base | 18-1012-34 | PA | X | 2 |
| 11 | Malla, 10 µm, base | 18-1012-35 | PP | X | 2 |
| | Malla, 12 µm, base | 18-1148-44 | PEEK | X | 2 |
| | Malla, 54 µm, base | 18-1127-03 | PP | X | 2 |
| 12 | Malla de soporte, base | 18-1012-36 | PP | X | 2 |
| 13 | Placa de distribución | 18-1012-37 | PP | X | 2 |
| 14 | Base | 18-1140-47 | 316 L | X | |
| 15 | Junta, 25 mm, i.d. 10 mm | 18-0200-00 | EPDM | X | 5 |
| 16 | Junta, 25 mm, i.d. 10 mm | 18-1012-40 | PTFE | X | 5 |
| 17 | Conector 25 mm/10 mm* | - | PP | X | 2 |
| 18 | Válvula manual de 4 conexiones, 2 vías | 18-1012-56 | 316L/PTFE | X | 1 |
| 19 | Soporte, completo | 18-1012-38 | 316 L | | - |
| 20 | Arandela de muelle | 18-1012-61 | 316 | | 6 |
| 21 | Fijación, M12 x 25 | 18-1012-65 | 316 | | 6 |
| 22 | Rueda | 18-1001-09 | - | | 1 |
| 23 | Ajustador de sellado | 18-1012-41 | PEEK | | 1 |
| 24 | Ajustador de altura del adaptador | 18-1128-31 | 316 | | 1 |
| 25 | Segmento de cierre | 18-1012-42 | POM | | 2 |
| 26 | Brida del adaptador | 18-1129-06 | 316 L | | - |
| 27 | Tuerca, M10 | 18-1012-44 | 316 | | 5 |
| 28 | Tornillo tope, completo | 18-1012-43 | 316/POM | | 1 |
| 29 | Tuerca de ajuste, inserto | 18-1012-45 | PEEK | | 1 |
| 30 | Unidad de cierre | 18-1147-50 | 316 L | | - |
| 31 | Tornillo con adaptador de cabeza, M8 | 18-1012-46 | 316 | | 3 |
| 32 | Tornillo de cabeza hexagonal, M8 x 60 | 18-1012-47 | 316 | | 5 |
| 33 | Junta de cierre 274 x 8 mm | 18-1012-51 | EPDM | X | 2 |
| 34 | Junta de cierre 274 x 8 mm | 18-1012-52 | FEP | X | 1 |
| 35 | Camisa del adaptador | 18-1147-83 | 316 | | |
| 36 | Tubo adaptador externo | 18-1142-93 | 316 L | | 1 |
| 37 | Tornillo, M8 x 16 | 18-1145-10 | 316L/PTFE | | 5 |
| 38 | Resorte | 18-1012-50 | 316/PTFE | | 1 |
| 39 | Placa del adaptador** | 18-1112-82 | S31803*** | X | 1 |
| 40 | Malla de soporte, adaptador | 18-1012-53 | PP | X | 2 |
| 41 | Malla, 23 µm, adaptador | 18-1012-54 | PP | X | 2 |
| 42 | Malla, 10 µm, adaptador | 18-1012-55 | PA | X | 2 |
| | Malla, 12 µm, adaptador | 18-1148-43 | PEEK | X | 2 |
| | Malla, 54 µm, adaptador | 18-1127-02 | PP | X | 2 |
| 43 | Tubos* | - | PVC | X | |
| 44 | Abrazadera, 25 mm | 18-1001-31 | 304 | | 1 |
| 45 | Soporte de rueda | 18-1033-33 | POM/316 | | 1 |

* Consulte la Tabla 3-4 en la Guía de mantenimiento de BPG; ** Tubo i.d. 10 mm; *** Comparable a 316L

Tabla A-3: Componentes de las columnas BPG 450. Los números de los artículos se refieren a la Figura A-5.

| Artículo n.º | Descripción | Código número | Material | ¿En contacto con líquido del proceso? | Cant/paq |
|--------------|---------------------------------------|---------------|---------------------|---------------------------------------|----------|
| 1 | Base | 18-1109-67 | 316 L | X | 1 |
| 2 | Malla de soporte, base | 18-1104-35 | PP | X | 1 |
| 3 | Brida | 18-1109-68 | PP/316 | X | 1 |
| 4 | Sello en forma de U | 18-1104-40 | EPDM | X | 1 |
| | Sello en forma de U | 18-1117-55 | PFR | X | 1 |
| 5 | Malla, 54 µm, base | 18-1127-05 | PP | X | 1 |
| | Malla, 23 µm, base | 18-1103-19 | PP | X | 1 |
| | Malla, 10 µm, base | 18-1103-18 | PA | X | 1 |
| | Malla, 12 µm, base | 18-1148-46 | PEEK | X | 1 |
| 6 | Reborde de la junta de cierre 446 x 6 | 18-1105-33 | EPDM | X | 2 |
| | Reborde de la junta de cierre 446 x 6 | 18-1117-67 | FEP | x | 1 |
| 7 | Tornillo de cabeza hexagonal M8 x 50 | 18-1109-40 | 316 | | 5 |
| 8 | Varilla BPG 450/500 | 18-1106-18 | 316 | | 1 |
| | Varilla BPG 450/750 | 18-1103-09 | 316 | | 1 |
| | Varilla BPG 450/1000 | 18-1103-10 | 316 | | 1 |
| 9 | Unidad de cierre | 18-1109-69 | 316 L | | 1 |
| 10 | Fijación de pin | 18-3001-07 | 316 | | 3 |
| 11 | Tornillo tope | 19-4363-01 | 316 | | 2 |
| 12 | Tubo de vidrio BPG 450/500 | 18-1103-14 | Vidrio borosilicado | X | 1 |
| | Tubo de vidrio 450/750 | 18-1103-15 | Vidrio borosilicado | X | 1 |
| | Tubo de vidrio 450/1000 | 18-1103-16 | Vidrio borosilicado | X | 1 |
| 13 | Tapón tope giratorio | 18-1107-43 | POM | | 1 |
| 14 | Tope giratorio | 18-1109-41 | 316 L | | 1 |
| 15 | Tornillo M8 x 50 | 18-1109-40 | 316 | | 5 |
| 16 | Separador | 18-1109-42 | 316 L | | 1 |
| 17 | Tapa | 18-1109-70 | 316 | | 1 |
| 18 | Segmento de cierre | 18-1109-43 | PP | | 2 |
| 19 | Ajustador de altura del adaptador | 18-1109-44 | POM | | 1 |
| 20 | Asa | 18-1109-45 | 316 | | 1 |
| 21 | Reborde de la tuerca | 18-1109-46 | PEEK | | 1 |
| 23 | Ajustador de sellado | 18-1109-47 | PEEK | | 1 |
| 24 | Asa | 18-1109-48 | 316 | | 1 |
| 25 | Mando | 18-1109-49 | PP | | 1 |
| 26 | Tornillo M10 x 65 | 18-1109-50 | 316 | | 2 |
| 27 | Arandela de muelle 10,5 x 20 | 18-1109-51 | 316 | | 10 |
| 28 | Tuerca ciega M10 y arandela de muelle | 18-1103-20 | 316 | | 1 |
| 29 | Tornillo adaptador | 18-1109-54 | 316 L | | 1 |
| 30 | Tubo de ajuste | 18-1109-55 | 316 | | 1 |
| 31 | Tubo de entrada i.d. 12 mm | 18-1109-53 | 316 L | X | 1 |
| 32 | Junta de cierre 12,3 x 2,4 | 18-1103-70 | EPDM | X | 2 |
| | Junta de cierre 12,3 x 2,4 | 18-1117-65 | FEP | X | 1 |
| 33 | Tornillo M4 x 16 | 18-1109-56 | 316 | | 2 |
| 34 | Resorte | 18-1107-44 | 316/PTFE | | 1 |
| 35 | Tornillo M5 x 10 | 18-1109-57 | 316 | | 2 |
| 36 | Interruptor de resorte | 18-1107-45 | PP | X | 2 |
| 38 | Placa del adaptador | 18-1109-71 | S31803* | X | 1 |
| 39 | Tornillo M8 x 25 | 18-1145-12 | 316L/PTFE | | 3 |
| 40 | Junta de cierre 419 x 10 | 18-1017-47 | EPDM | X | 1 |
| | Junta de cierre 419 x 10 | 18-1117-66 | FEP | X | 1 |
| 41 | Placa distribuidora | 18-1106-04 | PP | X | 1 |

*Comparable a 316L.

(continúa en la página siguiente)

Componentes de las columnas BPG 450 (continued)

| Artí- culo n.º | Descripción | Código número | Material | ¿En contacto con líquido del proceso? | Cant/ paq |
|-------------------|--|---------------|----------|---|--------------|
| 42 | Malla de soporte del adaptador | 18-1104-34 | PP | X | 1 |
| 43 | Malla 54 µm adaptador | 18-1127-04 | PP | X | 1 |
| | Malla 23 µm adaptador | 18-1001-62 | PP | X | 1 |
| | Malla 10 µm adaptador | 18-1017-46 | PA | X | 1 |
| | Malla 12 µm adaptador | 18-1148-45 | PEEK | X | 1 |
| 44 | Tornillo M10 x 80 | 18-1109-59 | 316 | | 2 |
| 45 | Tornillo M10 x 16 | 18-1109-60 | 316 | | 2 |
| 46 | Abrazadera | 18-1109-61 | 316 | | 1 |
| 47 | Tornillo M5 x 16 | 18-1109-62 | 316 | | 2 |
| 48 | Tubo de entrada inferior | 18-1109-63 | 316 L | X | 1 |
| 50 | Tornillo de cabeza hexagonal M10 x 40 | 18-1109-65 | 316 | | 2 |
| 51 | Pata | 18-1109-66 | 316 | | 1 |
| 52 | Soporte de rueda | 18-1107-46 | POM/316 | | 1 |
| 53 | Rueda | 18-1177-75 | | | 1 |
| | Perno de anilla | 18-1109-64 | | | 1 |
| 54 | Pieza de bloqueo de giro del adaptador | 18-1115-18 | 316 | | 1 |

Index

| | |
|--|----|
| A | |
| almacenamiento | 5 |
| avisos de advertencia | 4 |
| avisos de notas | 4 |
| avisos de precaución | 4 |
| C | |
| cálculos de HETP | 47 |
| cálculos de la asimetría del pico | 49 |
| cantidades de geles | 34 |
| columna | |
| cantidad de componentes suministrada | 7 |
| componentes básicos | 1 |
| desempaquetado | 7 |
| elección de la muestra de prueba | 47 |
| eliminación | 5 |
| empaquetado | 33 |
| evaluación | 46 |
| instalación | 17 |
| materiales | 10 |
| método de empaquetado sugerido | 41 |
| montaje y desmontaje | 17 |
| n.º de referencia de soportes y tubos | 7 |
| pérdida | 17 |
| principios de funcionamiento | 33 |
| test de estanqueidad | 17 |
| toma de tierra | 30 |
| conectores | 30 |
| curvas | |
| de presión | 12 |
| curvas de flujo | 12 |
| D | |
| desempaquetado de la columna | 7 |
| desmontaje del adaptador | |
| columnas 100, 140 y 200 | 20 |
| columnas 450 | 29 |
| desmontando el adaptador | |
| columnas 300 | 25 |
| desmontando la columna | |
| columnas 100, 140 y 200 | 17 |
| columnas 300 | 22 |
| columnas 450 | 27 |
| determinación del flujo de empaquetado | 35 |
| dispositivo de empaquetado | |
| situación de componentes | 22 |
| distintivo CE | 3 |
| E | |
| elección de la muestra de prueba para columnas | 47 |
| eliminación de la columna | 5 |

| | |
|--|-----------|
| especificaciones de la llave dinamométrica | |
| columnas 100, 140 y 200 | 20 |
| columnas 300 | 25 |
| columnas 450 | 29 |
| I | |
| instalación de la columna | 17 |
| M | |
| montaje de la columna | |
| columnas 100, 140 y 200 | 18 |
| columnas 300 | 24 |
| columnas 450 | 28 |
| montaje del adaptador | |
| columnas 100, 140 y 200 | 20 |
| columnas 300 | 26 |
| columnas 450 | 29 |
| montar un tubo de extensión | |
| columnas 100, 140 y 200 | 21 |
| columnas 300 | 26 |
| columnas 450 | 29 |
| N | |
| n.º de ref. | |
| soportes y tubos | 7 |
| O | |
| operadores aprobados | 5 |
| R | |
| resistencia química | 4, 10, 11 |
| S | |
| seguridad | 3 |
| atmósferas explosivas | 4 |
| distintivo EX | 4 |
| T | |
| tamaños de mallas | |
| flujos de empaquetado | 41 |
| tamaños de malla | 34 |
| test de estanqueidad | 31 |
| test de estanqueidad de la columna | 17 |
| toma de tierra de la columna | 30 |
| tubo de extensión | |
| montaje en las columnas 300 | 26 |
| montaje en las columnas 450 | 29 |
| montar en columnas 100, 140 y 200 | 21 |

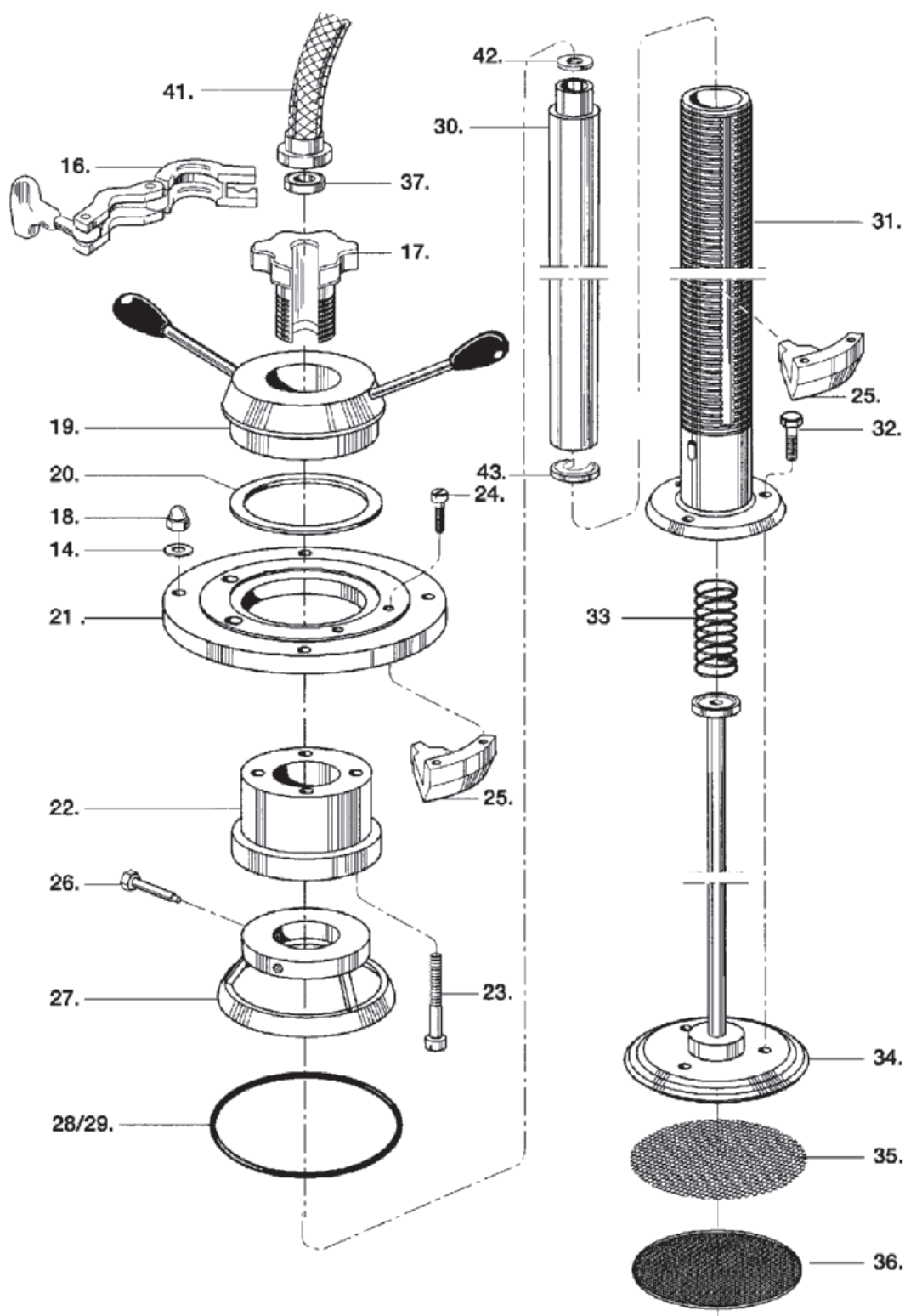
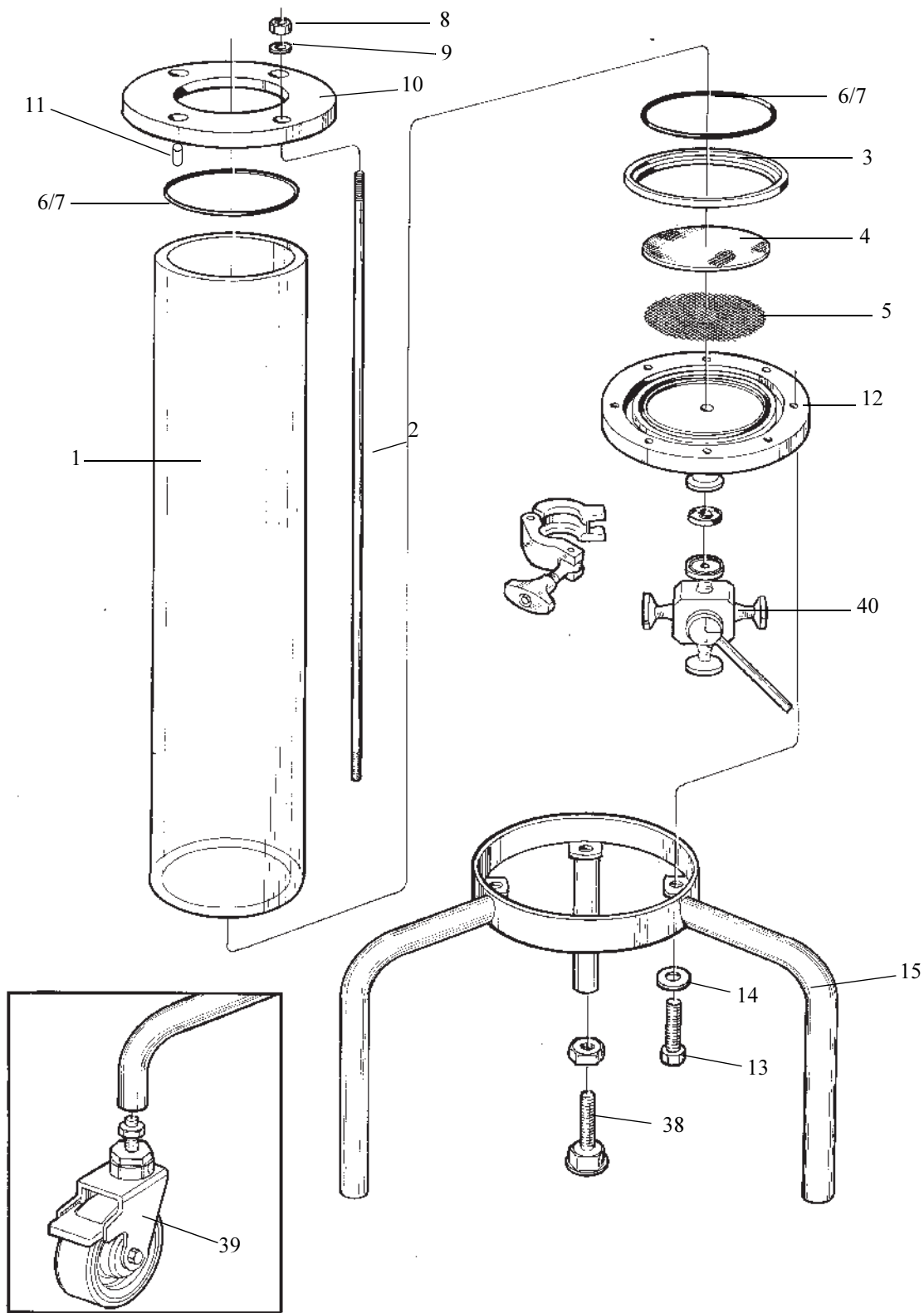
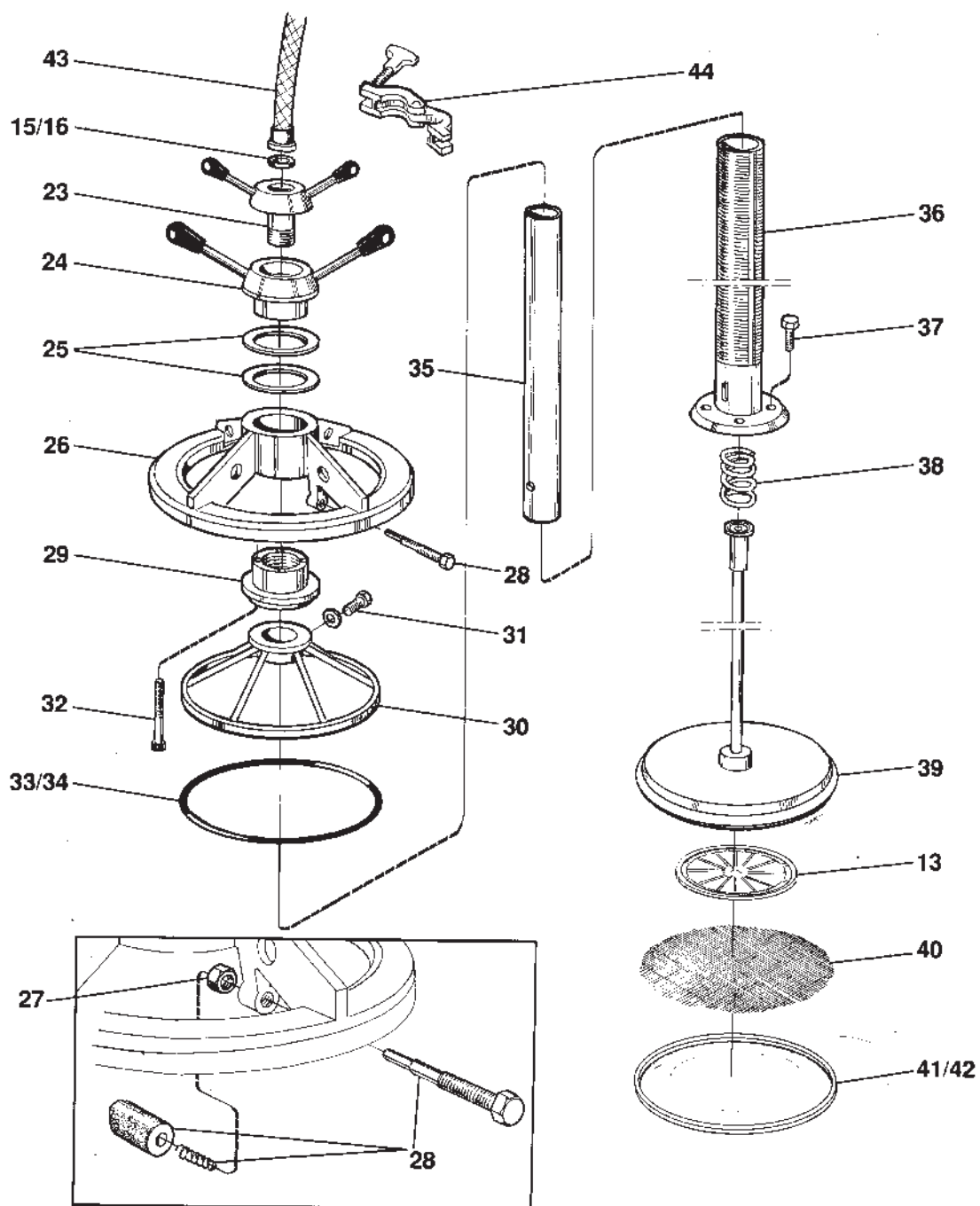


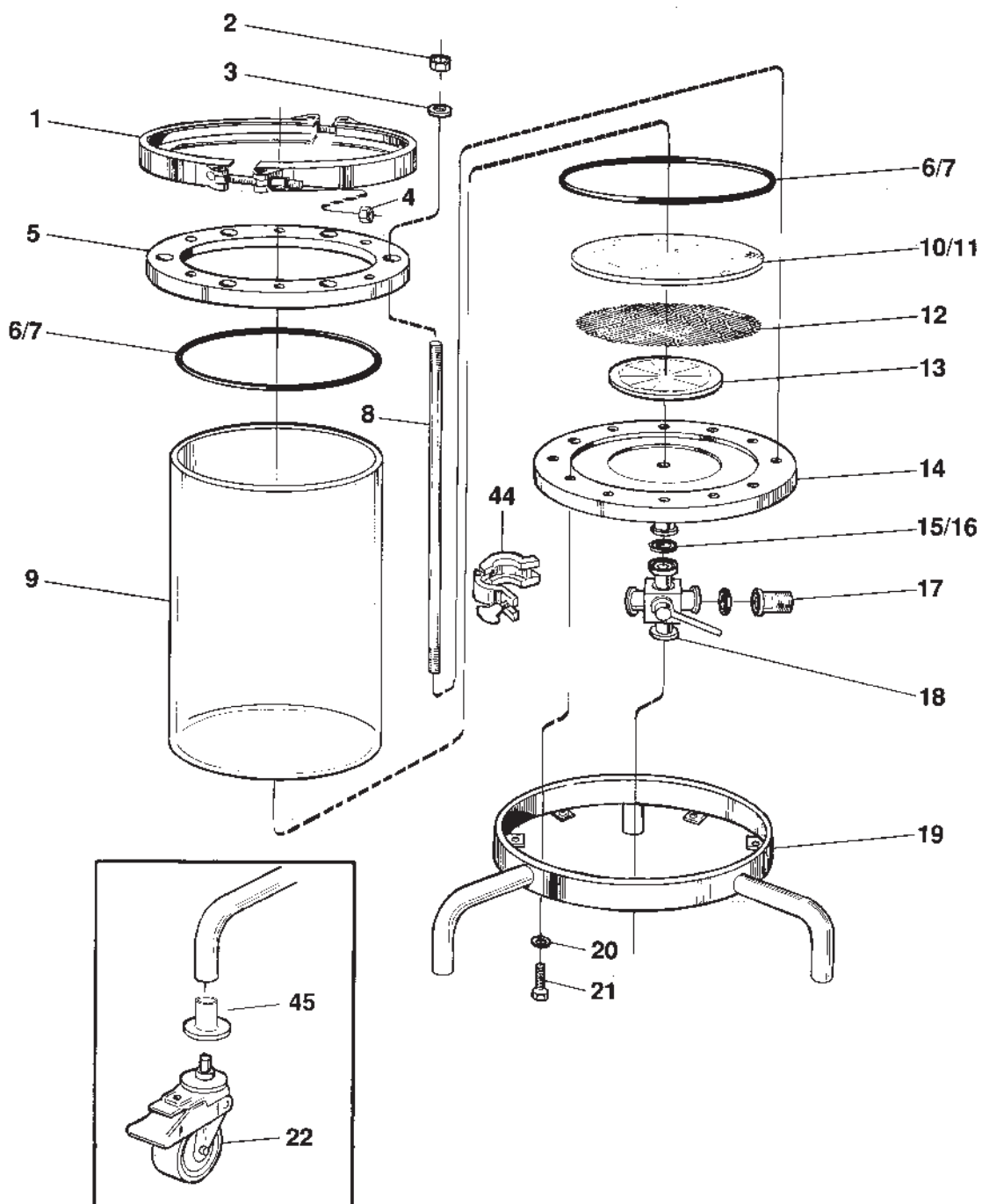
Figura A-1. Identificación de las partes de las columnas BPG 100, 140 y 200.



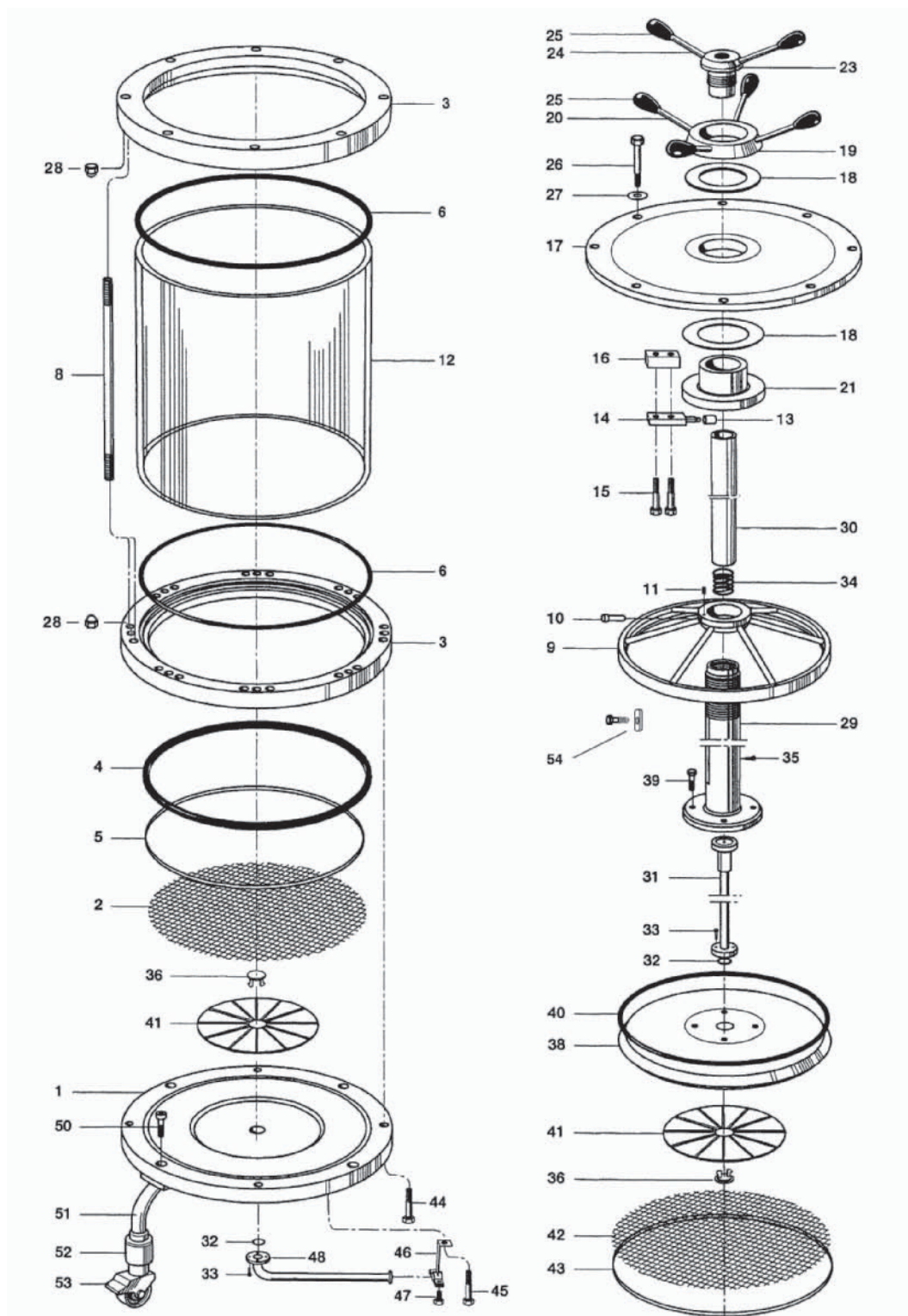
Figur A-2. Identificación de las partes de las columnas BPG 100, 140 y 200 (continuación).



Figur A-3 .Identificación de las partes de la columna BPG 300.



Figur A-4. Identificación de las partes de la columna BPG 300 (continuación).



Figur A-5. Identificación de las partes de la columna BPG 450.

www.chromatography.
amershambiosciences.com

GE Healthcare
Amersham Biosciences AB
Björkgatan 30
751 84 Uppsala
Sweden

BPG Sepharose, Sephacryl, Sephadex, Superdex og Drop Design er varemærker tilhørende Amersham Biosciences Limited. Amersham og Amersham Biosciences er varemærker tilhørende Amersham plc. Teflon er et varemærke tilhørende E.I. du Pont de Nemours and Co. Triton er et varemærke tilhørende Rohm & Haas Inc.

En overensstemmelseserklæring med angivelse af EU- direktiver og harmoniserede standarder gældende for denne type udstyr vedlægges særskilt alle enheder kontorer.
Eventuelle kommentarer vedrørende produktet sendes til:

© 2005 General Electric Company - Alle rettigheder forbeholdes

Amersham Biosciences AB, a General Electric company going to market as GE Healthcare.

GE Healthcare Amersham Biosciences AB
Björkgatan 30, 751 84 Uppsala, Sweden

GE Healthcare Amersham Biosciences Europe GmbH
Munzinger Strasse 9, D-79111 Freiburg, Germany

GE Healthcare Amersham Biosciences UK Ltd
Amersham Place, Little Chalfont, Buckinghamshire, HP7 9NA, UK

GE Healthcare Amersham Biosciences Corp
800 Centennial Avenue, P.O. Box 1327, Piscataway, NJ 08855-1327, USA

GE Healthcare Amersham Biosciences KK
Sanken Bldg. 3-25-1, Hyakunincho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan

Asia Pacific Tel: +852 2811 8693 Fax: +852 2811 5251 • Australasia Tel: + 61 2 9899 0999 Fax: +61 2 9899 7511 • Austria Tel: 01/57606-1619 Fax: 01/57606-1627 • Belgium Tel: 0800 73 888
Fax: 03 272 1637 • Canada Tel: 800 463 5800 Fax: 800 567 1008 • Central, East, & South East Europe Tel: +43 1 982 3826 Fax: +43 1 985 8327 • Denmark Tel: 45 16 2400 Fax: 45 16 2424 • Finland &
Baltics Tel: +358-09-512 39 40 Fax: +358-09 51 2 39 439 • France Tel: 01 69 35 67 00 Fax: 01 69 41 96 77 • Germany Tel: 0761/4903-490 Fax: 0761/4903-405 • Italy Tel: 02 27322 1 Fax: 02 27302 212
• Japan Tel: +81 3 5331 9336 Fax: +81 3 5331 9370 • Latin America Tel: +55 11 3933 7300 Fax: +55 11 3933 7304 • Middle East & Africa Tel: +30 210 9600 687 Fax: +30 210 9600 693 • Netherlands
Tel: 01 65 580 410 Fax: 01 65 580 401 • Norway Tel: 815 65 555 Fax: 815 65 866 • Portugal Tel: 21 417 7035 Fax: 21 417 31 84 • Russia & other CIS & NIS Tel: +7 10951 232 0250, 9561 137 Fax: +7 10951
230 6377 • South East Asia Tel: 60 3 8024 2080 Fax: 60 3 8024 2090 • Spain Tel: 93 594 49 50 Fax: 93 594 49 55 • Sweden Tel: 018 612 1900 Fax: 018 612 1910 • Switzerland Tel: 0848 8028 12 Fax:
0848 8028 13 • UK Tel: 0800 616928 Fax: 0800 616927 • USA Tel: 800 526 3593 Fax: 877 295 81 02



imagination at work

Mono de empleo 18-1170-70 AB